

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

PAR
GUILLAUME L. LEMIEUX

DIVERSITÉ DE LA FONCTION DU RÉCEPTEUR mGluR₅ DANS L'ANXIÉTÉ,
LA MOTRICITÉ ET L'APPRENTISSAGE

FÉVRIER 2019

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

If I had 60 minutes to solve a problem and my life depended on it,

I'd spend 55 minutes determining the right question to ask.

Once I got the right question,

I could easily answer it in 5 minutes.

-Albert Einstein

REMERCIEMENTS

Le système nerveux central est un des systèmes les plus importants et complexes dans le corps humain. J'ai toujours été intéressé à comprendre son fonctionnement. Afin d'approfondir mes connaissances dans le domaine, durant mon baccalauréat en biologie médicale, j'ai rejoint le groupe de recherche en signalisation cellulaire dans le laboratoire de neuropharmacologie moléculaire de Michel Cyr. J'ai pu, pendant mon stage et ma maîtrise, approfondir mes connaissances dans le domaine de la neuropharmacologie, mais plus précisément au niveau du système glutamatergique et de son implication dans la régulation de différents comportements.

J'aimerais remercier sincèrement mon directeur de recherche Michel Cyr pour son soutien et pour sa rigueur. Sa disponibilité et sa détermination à former ses étudiants en tant que chercheurs professionnels m'ont sans nul doute permis d'acquérir une maturité scientifique et professionnel qui me seront utiles tout au long de ma carrière. Merci à mon codirecteur de recherche Dr. Guy Massicotte pour son soutien et ces bons conseils tout au long de mon cheminement. Je remercie évidemment les assistantes de recherche Mme Geneviève Bureau et Laure Chagniel qui, tout au long de ma maîtrise, m'ont aidé dans l'avancement de mon projet autant par leur soutien académique que par leur partage de connaissances. Merci à Élise Pépin, ma collègue, mon amie, avec qui j'ai pu partager ces deux belles années. Sans toi, cela n'aurait pas été aussi agréable. Merci aux autres étudiants du laboratoire Bruno Ouimet et Yan Bergeron avec qui j'ai pu alimenter mon esprit scientifique avec des conversations formatives. Aux stagiaires Maxence Brouillette et Tim Jalignier qui m'ont aidé avec certaines manipulations et avec qui j'ai également pu échanger et partager des connaissances scientifiques.

Merci à mes parents pour leur soutien durant mon avancement académique ainsi qu'à ma fiancée Elyse pour sa grande écoute et pour sa patience durant mes nombreuses pratiques de présentations.

RÉSUMÉ

Le glutamate est le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central (SNC). Plus précisément, le récepteur métabotrope du glutamate 5 (mGluR₅) est connu pour être important dans la plasticité synaptique au niveau de plusieurs régions cérébrales et sa signalisation est importante dans différentes fonctions cérébrales telles que la mémoire, la cognition, l'anxiété et la locomotion. L'inhibition pharmacologique du récepteur mGluR₅ par des modulateurs allostériques négatifs (NAM) comme le MPEP et le MTEP a été largement documentée pour avoir des effets anxiolytiques et altérer la locomotion. Toutefois, l'impact de sa modulation positive sur les comportements anxieux ainsi que son implication dans l'exécution motrice et l'apprentissage moteur reste à ce jour inconnu. Ainsi, l'objectif de mon étude est d'investiguer l'impact de la modulation positive et négative du récepteur mGluR₅ sur les comportements anxieux et moteurs chez des souris. À cette fin, j'ai administré par injection intra-péritonéale le modulateur allostérique négatif MTEP ou le modulateur allostérique positif CDPPB du récepteur mGluR₅. Ensuite, les souris ont été soumises à de nombreux tests évaluant leurs comportements anxieux (« Elevated plus maze » & « Light/Dark transition »), les capacités d'exécution motrice (« Pole test », « Wire test », « Beam test », « Stepping test » & « Cylinder test ») ainsi que leurs capacités d'apprentissage moteur (Rotarod en accélération). Mes résultats confirment l'effet anxiolytique du MTEP et dévoilent un effet anxiogénique du CDPPB. De plus, bien que le CDPPB n'affecte pas les capacités motrices, celui-ci a causé un ralentissement de l'apprentissage moteur. En plus de confirmer l'importance du récepteur mGluR₅ dans les comportements anxieux, mes résultats sont les premiers à démontrer que sa modulation affecte les capacités d'apprentissage et de mémorisation d'une tâche motrice. Une bonne compréhension de la manière dont le cerveau organise, commande et intègre les mouvements volontaires est d'une grande importance pour la compréhension des bases neurophysiologiques de la motricité. Bien que ce soit à un niveau fondamental, mes travaux participent à fournir une piste thérapeutique novatrice dans l'étude des maladies neurologiques causant des troubles du mouvement.

Mots clés : Glutamate, mGluR₅, MTEP, CDPPB, anxiété, exécution motrice, apprentissage moteur

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	iii
RÉSUMÉ.....	iv
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	x
CHAPITRE I.....	1
INTRODUCTION.....	1
1.1 Généralités du système glutamatergique.....	2
1.1.1 Structure du glutamate.....	2
1.1.2 Synthèse du glutamate.....	3
1.1.3 Métabolisme du glutamate.....	4
1.1.4 Récepteurs glutamatergiques.....	6
1.1.5 Voies glutamatergiques.....	8
1.2 Récepteur mGluR ₅	9
1.2.1 Structure du récepteur mGluR ₅	9
1.2.2 Fonction du récepteur mGluR ₅	12
1.2.3 Activation du récepteur mGluR ₅	13
1.3 Neurophysiologie du récepteur mGluR ₅	16
1.3.1 Distribution du récepteur mGluR ₅	16
1.3.2 mGluR ₅ et le système limbique.....	17
1.3.2.1 mGluR ₅ et l'anxiété.....	18
1.3.2.2 mGluR ₅ et les autres pathologies.....	20
1.3.3 mGluR ₅ et le système moteur.....	21
1.3.3.1 mGluR ₅ et l'exécution motrice.....	23
1.3.3.2 mGluR ₅ et l'apprentissage.....	25
1.4 mGluR ₅ comme nouvelle cible thérapeutique.....	26

CHAPITRE II.....	28
HYPOTHÈSES DE RECHERCHE.....	28
CHAPITRE III.....	31
MÉTHODOLOGIE ET APPROCHE SCIENTIFIQUE.....	31
3.1 Animaux.....	31
3.2 Procédures expérimentales.....	31
3.3 Tests comportementaux.....	33
3.3.1 Tests moteurs.....	33
3.3.1.1 « Pole test ».....	33
3.3.1.2 « Wire test ».....	34
3.3.1.3 « Beam test ».....	35
3.3.1.4 « Stepping test ».....	35
3.3.1.5 « Cylinder test ».....	36
3.3.1.6 « Rotarod ».....	37
3.3.2 Tests d'anxiété.....	38
3.3.2.1 « Elevated Plus Maze ».....	38
3.3.2.2 « Light/Dark Transition ».....	39
3.4 Traitements pharmacologiques.....	40
3.5 Analyses statistiques.....	41
CHAPITRE IV.....	42
RÉSULTATS.....	42
4.1 Influence de la modulation du récepteur mGluR ₅ sur les comportements anxieux.....	42
4.1.1 Validation de l'effet anxiolytique du modulateur allostérique négatif MTEP	42
4.1.2 L'augmentation de l'activité du récepteur mGluR ₅ par le modulateur allostérique positif CDPPB induit une augmentation des comportements anxieux.....	44
4.2 Influence de la modulation du récepteur mGluR ₅ sur les comportements moteurs.....	45
4.2.1 L'administration de MTEP n'affecte pas les capacités motrices.....	46

4.2.2	L'administration de CDPPB n'affecte pas les capacités motrices.....	48
4.2.3	L'administration de MTEP n'influence pas les capacités d'apprentissage d'une tâche motrice.....	50
4.2.4	L'injection de CDPPB ralentie l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice.....	52
CHAPITRE V.....		54
DISCUSSION.....		54
5.1	Confirmation de l'effet anxiolytique du MTEP.....	54
5.2	Investigation de l'impact de la modulation positive du récepteur mGluR ₅ par le CDPPB.....	56
5.3	La modulation du récepteur mGluR ₅ n'affecte pas les capacités motrices.....	60
5.4	Investigation de l'impact de la modulation du récepteur mGluR ₅ sur l'apprentissage et la mémorisation motrice.....	66
5.5	Conclusion et perspectives.....	72
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		74

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	La synapse.....	2
Figure 1.2	Le glutamate.....	2
Figure 1.3	La synthèse du glutamate.....	4
Figure 1.4	Libération de neurotransmetteur.....	5
Figure 1.5	Cycle du glutamate.....	6
Figure 1.6	Récepteurs ionotropiques du glutamate.....	7
Figure 1.7	Récepteurs métabotropiques du glutamate.....	8
Figure 1.8	Structure du récepteur mGluR ₅	10
Figure 1.9	Mécanisme intracellulaire de l'activation du récepteur mGluR ₅	11
Figure 1.10	Signalisation intracellulaire du récepteur mGluR ₅	14
Figure 3.1	Procédures expérimentales.....	32
Figure 3.2	« Pole test ».....	34
Figure 3.3	« Wire test ».....	34
Figure 3.4	« Beam test ».....	35
Figure 3.5	« Cylinder test ».....	37

Figure 3.6	« Rotarod ».....	38
Figure 3.7	« Elevated Plus Maze ».....	39
Figure 3.8	« Light/Dark Transition ».....	40
Figure 4.1	Le MTEP atténue les comportements anxieux chez la souris.....	43
Figure 4.2	Le CDPPB accentue les comportements anxieux chez la souris.....	45
Figure 4.3	Le MTEP n'influence pas les capacités motrices chez la souris.....	47
Figure 4.4	Le CDPPB n'affecte pas les capacités motrices chez la souris...	49
Figure 4.5	La modulation allostérique négative du récepteur mGluR ₅ n'affecte pas l'apprentissage.....	51
Figure 4.6	La modulation allostérique positive du récepteur mGluR ₅ ralentit l'apprentissage moteur.....	53

LISTE DES ABRÉVIATIONS

7TM	7 passages transmembranaires
AC	Adenylate cyclase
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
Arc	«Activity-regulated cytoskeleton-associated protein»
BHE	Barrière hématoencéphalique
CaMKII	«Protéine kinases Ca^{2+} /calmoduline-dépendantes »
CDPPB	3-Cyano-N-(1,3-diphenyl-1H-pyrazol-5-yl)benzamide
COO^-	Base conjuguée de l'acide carboxylique
COOH	Acide carboxylique
DAG	Diacylglycerol
EAAT	«Excitatory amino acid transporter»
ERK	«Extracellular signal-regulated kinases»
GDP	Guanosine Diphosphate
GTP	Guanosine Triphosphate
Homer1	«Homer protein homolog 1»
iGluR	Récepteurs ionotropique du glutamate
IP3	Inositol trisphosphate
LID	«Levodopa-induced dyskinesia»
LTD	« Long-term depression»
LTP	« Long-term potentiation»
mGluR	Récepteur métabotrope du glutamate
mGluR ₅	Récepteur métabotrope du glutamate 5
MPEP	2-Methyl-6-(phenylethynyl)pyridine

MTEP	3-((2-Methyl-4-thiazolyl)ethynyl)pyridine
NH ₂	Amine
NAM	Modulateur allostérique négatif
NMDA	Acide N-méthyl-D-aspartique
NT	Neurotransmetteur
PAM	Modulateur allostérique positif
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PKC	Protéine kinase C
PLC	Phospholipase C
RCPG	Récepteur couplé aux protéines G
RGS	Protéines régulatrices des protéines G
SNC	Système nerveux central
VGLUT	« Vesicular glutamate transporter »

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Le cerveau est sans aucun doute l'une des structures les plus complexes du corps humain. C'est en fait l'organe qui permet au corps de fonctionner correctement et de s'adapter à son environnement. Il se compose de cellules neuronales qui assurent une bonne communication avec l'organisme et de cellules gliales qui assurent la défense et la nutrition du cerveau. La communication assurée par les neurones se fait grâce à une structure anatomique nommée synapse, qui se compose de quatre acteurs principaux : l'expéditeur, nommé neurone présynaptique, qui envoie un message via la fente synaptique, nommé neurotransmetteur, à un destinataire, nommé récepteur, qui est situé sur le neurone postsynaptique (**figure 1.1**). Ce mécanisme de transfert d'informations survient des milliards et des milliards de fois dans une journée et nous permet de bouger, de penser, de manger ou encore de lire un texte. Dans le présent ouvrage, je vous présenterai mes travaux de recherche qui portent sur un neurotransmetteur bien connu : le glutamate, et sur un de ses récepteurs : le récepteur métabotrope du glutamate 5 (mGluR₅).

Synapse

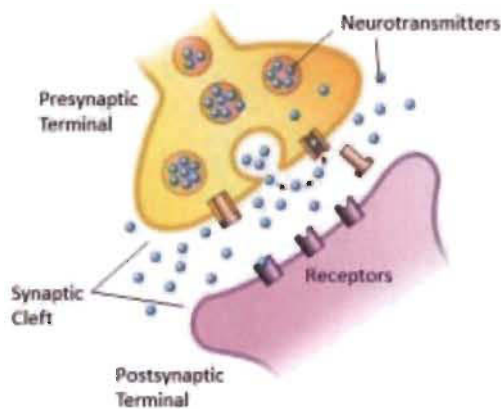


Figure 1.1 La synapse
(Marieb and Hoehn 2010)

1.1 Généralités du système glutamatergique

1.1.1 Structure du glutamate

Le glutamate est une petite molécule de faible poids moléculaire. Il est composé d'un acide carboxylique (COOH), d'un groupement amine (NH₂) et finalement d'une chaîne latérale (CH₂CH₂COOH) qui lui est propre (**Figure 1.2**). (Brosnan and Brosnan 2013)

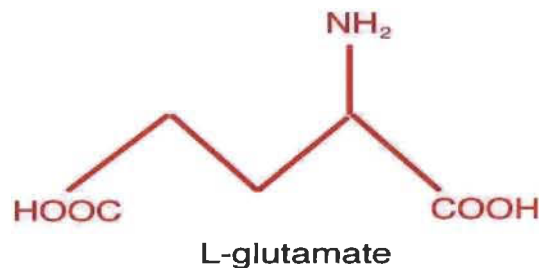


Figure 1.2 Le Glutamate
(Connaughton 1995)

La présence du groupement carboxyle et de l'amine fait du glutamate une molécule qui fait partie d'une grande famille de molécules : les acides aminés. Les acides aminés sont les unités de base des protéines. Le glutamate participe donc à la constitution des protéines cellulaires. Toutefois, en plus d'avoir ce rôle important, le glutamate agit aussi comme messenger dans le système nerveux central (SNC). Il permet la transmission d'informations d'un neurone à l'autre en agissant comme neurotransmetteur. En fait, il est considéré comme étant le principal neurotransmetteur excitateur du SNC. (Hackett and Ueda 2015)

1.1.2 Synthèse du glutamate

Le glutamate fait partie des acides aminés dits non-essentiels, ce qui signifie qu'il peut être synthétisé par l'organisme directement dans les cellules. Certains neurones ont la capacité de synthétiser le glutamate, ce qui leur confère le nom de neurones glutamatergiques. Dans ces neurones, le glutamate est synthétisé de deux principales façons. Une d'entre elles consiste à une réaction de transamination de l' α -cétooglutarate, un intermédiaire du cycle de Krebs mitochondriale, par une enzyme nommée transaminase. La seconde voie de synthèse consiste à transformer un autre acide aminé, la glutamine, en glutamate par une enzyme nommée glutaminase (**Figure 1.3 et 1.5**) (Rowley, Madsen et al. 2012). Ces deux voies de synthèse du glutamate permettent de garder un taux physiologique viable pour le bon fonctionnement du SNC.

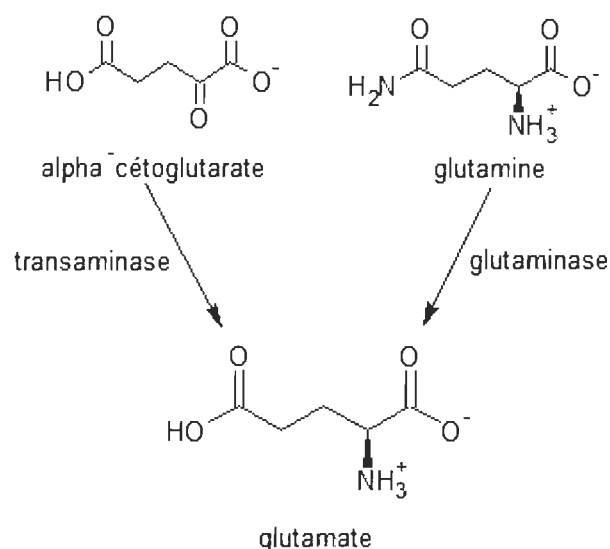


Figure 1.3 La synthèse du glutamate
(Rowley, Madsen et al. 2012)

1.1.3 Métabolisme du glutamate

Lorsque le glutamate est en solution à pH physiologique (comme dans les cellules par exemple), son acide carboxylique est déprotoné, ce qui lui confère une charge négative (COO^-). Cette forme ionisée lui attribue un caractère hydrophile et l'empêche de sortir du SNC grâce à la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Marieb and Hoehn 2010). Étant confiné au SNC, il devra être entreposé dans des vésicules. En fait, une fois synthétisé, le glutamate sera reconnu de manière spécifique par le transporteur vésiculaire du glutamate (« Vesicular Glutamate transporter », VGLUT) qui, sous certaines conditions physicochimiques, permettra le stockage du glutamate dans des vésicules au niveau de la terminaison nerveuse (**figure 1.5**). Lors de la stimulation du neurone, les vésicules iront fusionner avec la membrane cellulaire et libérer leur contenu dans la fente synaptique suite à certains changements ioniques dont une augmentation de calcium (**Figure 1.4**) (Hackett and Ueda 2015).

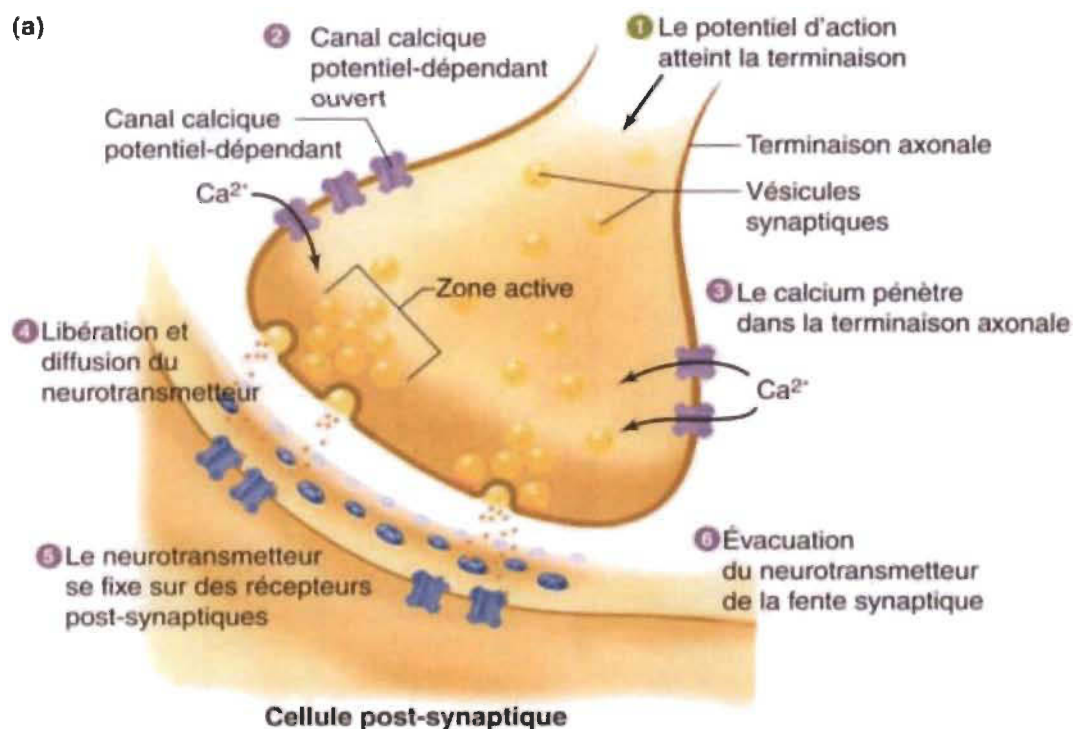


Figure 1.4 Libération de neurotransmetteur
(Marieb and Hoehn 2010)

Suite à la transmission du signal au neurone post-synaptique, le glutamate doit être recyclé. Il sera alors éliminé de la fente synaptique par les transporteurs d'acides aminés excitateurs (« Excitatory amino acid transporters », EAAT) qui existent sous 5 isoformes différents. D'une part, les EAAT₁ & 2 permettent au glutamate d'entrer dans les astrocytes voisins dans lesquels il sera transformé en glutamine (EAAT₂ assure 90% de cette recapture). La glutamine sera ensuite transférée vers les neurones pour finalement être recyclée en glutamate. D'autre part, les EAAT₃ à 5 se situeraient exclusivement sur les neurones et effectueraient une recapture du glutamate permettant un recyclage directement dans les neurones. Dans les deux situations, le glutamate sera de nouveau entreposé dans les vésicules et prêt à une nouvelle utilisation (**Figure 1.5**) (Fahlke, Kortzak et al. 2016).

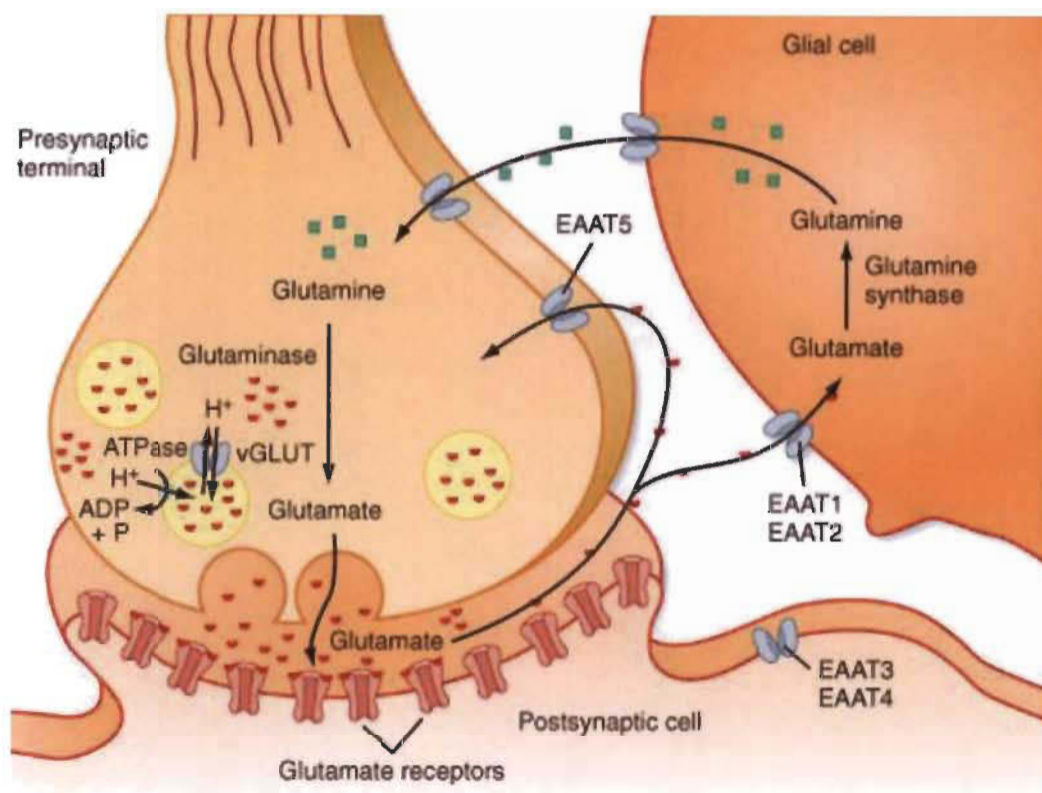


Figure 1.5 Cycle du glutamate
(Berne, Koeppen et al. 2008)

1.1.4 Récepteurs glutamatergiques

Comme tout neurotransmetteur, lorsque libéré dans la fente synaptique, le glutamate activera différents types de récepteurs catégorisés en fonction de leur mécanisme de transmission. Les deux classes de récepteurs au glutamate sont les récepteurs ionotropiques (iGluR) et les récepteurs métabotropiques (mGluR).

Les récepteurs ionotropiques, comme leur nom l'indique, déclenchent une signalisation par le biais d'ions. Ces récepteurs de type canaux ioniques incluent les récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionate (AMPA), kaïnate et N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (Dingledine, Borges et al. 1999) (**figure 1.6**). Ces

récepteurs transportent des ions tel que Na^+/K^+ (AMPA/Kainate et NMDA) et Ca^{2+} (NMDA) et leur activation mène notamment à une dépolarisation membranaire ainsi qu'à l'activation de certaines voies intracellulaires calcium-dépendantes.

A Ionotropic glutamate receptor

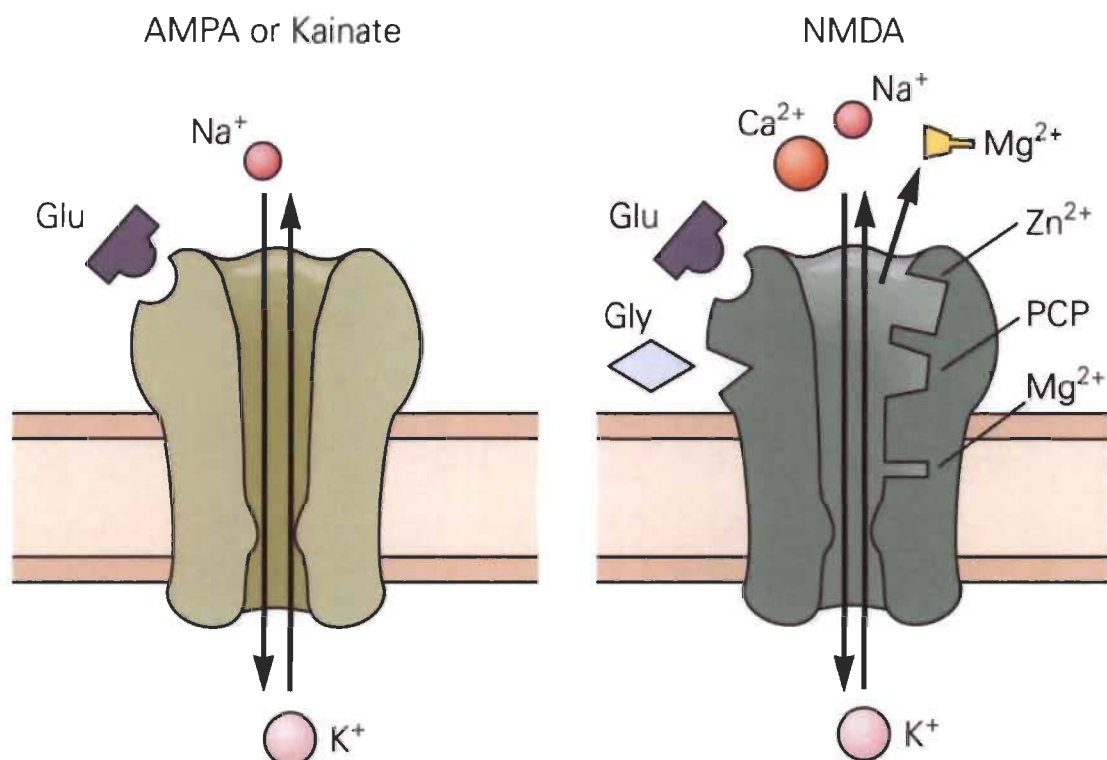


Figure 1.6 Récepteurs ionotropiques du glutamate
(Brockie and Maricq 2006)

Contrairement aux récepteurs ionotropiques, les récepteurs métabotropiques sont des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Les mGluRs sont classés en trois groupes (I, II et III) selon l'homologie de leur séquence peptidique et la protéine G avec laquelle ils interagissent. Les récepteurs du groupe I, mGluR₁ et mGluR₅, sont couplés à la protéine $\text{G}\alpha_q$ et activent la phospholipase C (PLC). Les récepteurs du groupe II, mGluR₂ et mGluR₃, et du groupe III, mGluR₄, mGluR₆, mGluR₇ et mGluR₈, sont couplés à la

protéine $G\alpha_i$ et inhibent l'adénylate cyclase (AC) (**Figure 1.7**) (Pin and Duvoisin 1995, Conn and Pin 1997, Conn, Battaglia et al. 2005, Nicoletti, Bockaert et al. 2011). Pour la compréhension de cet ouvrage, seule la théorie en lien avec le groupe I sera développée.

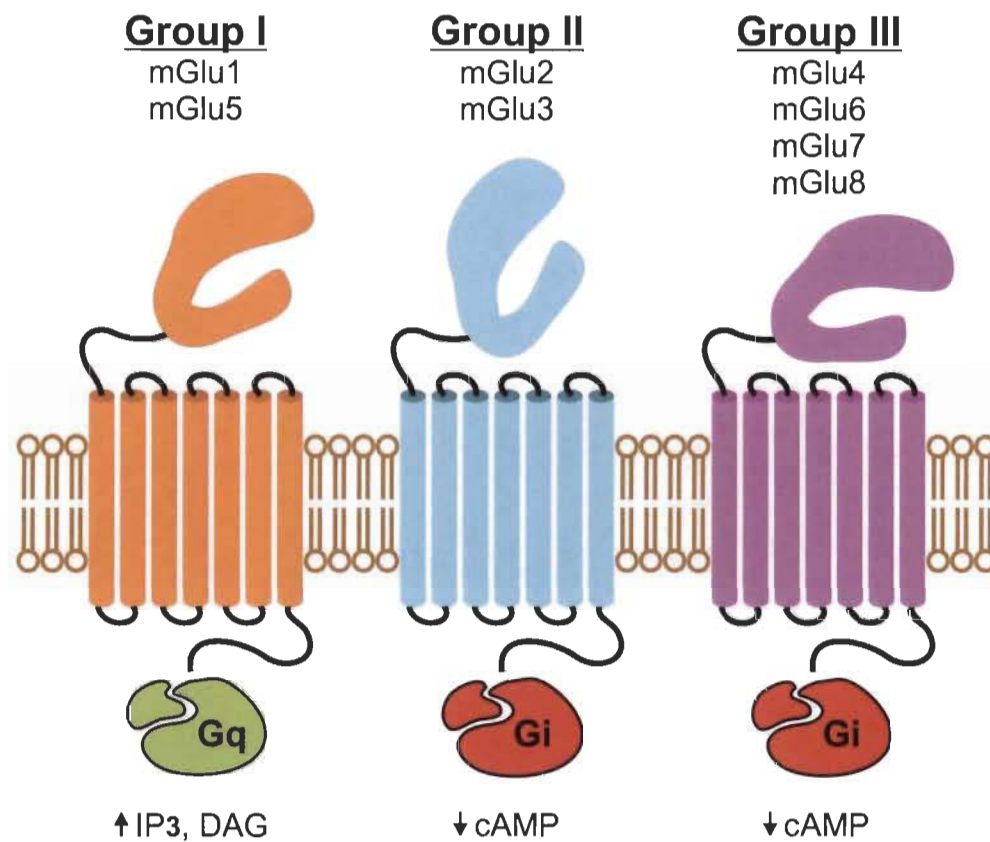


Figure 1.7 Récepteurs métabotropiques du glutamate
(Julio-Pieper, Flor et al. 2011)

1.1.5 Voies glutamatergiques

Comme le glutamate est le principal NT excitateur du SNC, les neurones glutamatergiques sont présents dans plusieurs structures du cerveau et sont impliqués dans plusieurs fonctions cérébrales. En effet, en plus de permettre aux différentes régions corticales de communiquer entre-elles, le glutamate permet aussi au cortex de

communiquer avec plusieurs régions sous-corticales, comme le mésencéphale, les ganglions de la base, etc. Aussi, il permet la communication avec le tronc cérébral, qui a comme rôle le relais de l'information qui provient du corps vers le cerveau et vice-versa. L'implication de ce NT dans plusieurs circuits neuronaux lui confère une importance dans plusieurs fonctions physiologiques telles que le mouvement, les émotions, la douleur, la cognition, la mémoire et plusieurs autres. (Thoreson and Witkovsky 1999, Brockie and Maricq 2006, Shiflett and Balleine 2011, Guerriero, Giza et al. 2015, Alasmari, Goodwani et al. 2018). Considérant que mes travaux portent sur le récepteur mGluR₅, j'orienterai mes explications théoriques sur les particularités et caractéristiques de ce récepteur dans le système glutamatergique.

1.2 Récepteur mGluR₅

Parmi les récepteurs métabotropiques du glutamate, ceux du groupe I se démarquent par leur localisation postsynaptique, contrairement au groupe II et III qui sont pour la majorité situés sur les neurones présynaptiques. mGluR₁ et mGluR₅ ont donc comme rôle la transmission du signal dans le neurone postsynaptique. Durant mon projet, je me suis concentré sur le récepteur mGluR₅ qui, en comparaison au récepteur mGluR₁, semble à ce jour avoir un avenir thérapeutique plus prometteur et être impliqué dans plus de fonctions cérébrales (Luscher and Huber 2010).

1.2.1 Structure du récepteur mGluR₅

Le récepteur mGluR₅ fait partie des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). Il est transcrit à partir du gène GRM5 situé sur le chromosome 11 chez l'humain. Ce

récepteur comporte 3 régions importantes. La première est un grand domaine extracellulaire (N-terminale) dans lequel se trouve le site orthostérique où se fixe le glutamate endogène (Muto, Tsuchiya et al. 2007). La seconde est un domaine à 7 passages transmembranaires (7TM) qui contient un site allostérique où certaines molécules de synthèse peuvent venir affecter l'activité normale du récepteur (Molck, Harpsøe et al. 2014). La troisième est un petit domaine intracellulaire (C-terminale) qui interagit avec la protéine G_q (Rondard and Pin 2015). Une fois synthétisé, ce récepteur s'assemble en dimère afin d'être fonctionnel (**figure 1.8**).

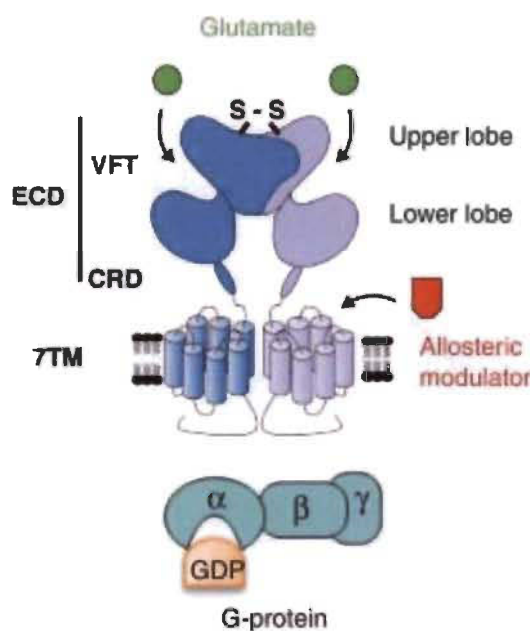


Figure 1.8 Structure du récepteur mGluR₅
(Rondard and Pin 2015)

En absence de glutamate, le récepteur est dans une conformation de repos, c'est-à-dire que la protéine G est liée à la guanosine diphosphate (GDP) et ne transmet pas de signal vers l'intérieur de la cellule. À l'inverse, lorsque le glutamate se fixe sur le récepteur, celui-ci adoptera une conformation active qui diminuera son affinité avec la

GDP. À ce moment, la GDP va se dissocier ce qui laissera la place à la guanosine triphosphate (GTP) pour se lier à la protéine G. Cette liaison permettra de transmettre l'information à l'intérieur de la cellule par diverses protéines de signalisation. La GTP finira par être hydrolysée par une protéine régulatrice des protéines G (RGS) pour reformer la GDP et ainsi ramener le récepteur à sa conformation inactive (**Figure 1.9**) (Stewart, Huang et al. 2012). Cette inactivation permet un équilibre entre les conformations actives et inactives et est importante pour garder une activité normale du récepteur.

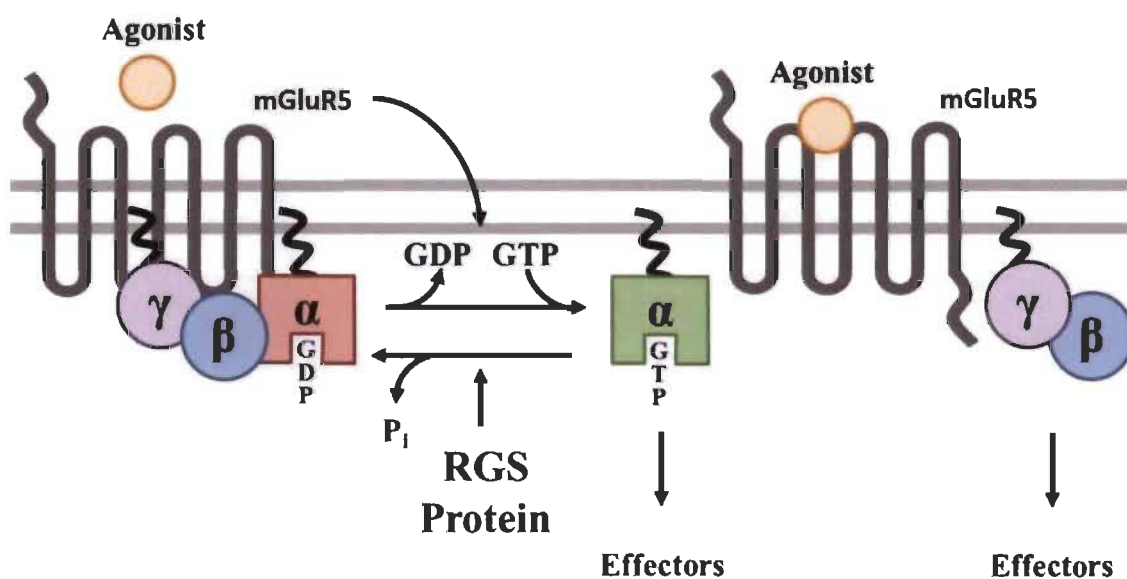


Figure 1.9 Mécanisme intracellulaire de l'activation du récepteur mGluR₅
(Adapté de Stewart, Huang et al. 2012)

Grâce aux avancées technologiques dans le domaine de la pharmacologie, il est maintenant possible de favoriser ou de défavoriser la conformation active du récepteur. En effet, à l'aide de modulateurs allostériques synthétiques, il est aujourd'hui possible d'augmenter ou de diminuer l'affinité du récepteur (mGluR₅) avec son ligand endogène (glutamate). Les modulateurs allostériques négatifs (NAM) se lient à mGluR₅ et

diminuent l'affinité du récepteur avec le glutamate, alors que les modulateurs allostériques positifs (PAM), à l'inverse, vont augmenter l'affinité (Molck, Harpsoe et al. 2014). Pour la réalisation de mes expériences, j'ai utilisé le 3-((2-Méthyl-4-thiazolyl)ethynyl)pyridine (MTEP) comme NAM et le 3-Cyano-*N*-(1,3-diphenyl-1*H*-pyrazol-5-yl)benzamide (CDPPB) comme PAM. Le MTEP est un NAM de seconde génération qui a succédé le 2-méthyl-6- (phényléthynyl) pyridine (MPEP) (Gasparini, Lingenhohl et al. 1999). Son avantage est qu'il offre une sélectivité beaucoup plus élevée envers le récepteur mGluR₅ (Cosford, Tehrani et al. 2003). Pour le CDPPB, il est le premier PAM à passer la BHE, ce qui permet de faciliter les études chez des modèles animaux en permettant des modes d'administration périphériques tels que les injections sous-cutanées ou intrapéritonéales (Lindsley, Wisnoski et al. 2004).

1.2.2 Fonctions du récepteur mGluR₅

Le glutamate est un neurotransmetteur, dit « excitateur », car il est capable de générer un potentiel d'action grâce à la liaison de ses récepteurs ionotropiques. Lorsque ceux-ci sont activés, ils mènent à la dépolarisation de la membrane et permettent de transmettre les influx nerveux à travers le SNC. Par ailleurs, les récepteurs métabotropiques sont en mesure de moduler l'activité des neurones à plus long terme. Plutôt que de permettre le passage d'ions, l'activation du récepteur mGluR₅ va engendrer des changements dans la morphologie neuronale et dans le nombre de récepteurs disponibles pour lier le glutamate et ainsi changer l'efficacité de la transmission nerveuse (Kandel, 2001; Malinow et Malenka, 2002; Kandel, 2012). Ces changements sont à la

base d'un mécanisme cellulaire nommé : plasticité synaptique. La plasticité synaptique module l'efficacité de la transmission neuronale entre deux régions cérébrales en renforçant ou en atténuant les connexions synaptiques entre ces régions. Le renforcement des connexions se fait par la plasticité nommée potentialisation à long terme (LTP, pour « long-term potentiation »), alors que l'atténuation se fait par la plasticité nommée dépression à long terme (LTD, pour « long-term depression »). L'équilibre entre ces deux mécanismes opposés permet à notre cerveau de bien se développer et de bien fonctionner avec son environnement. La plasticité synaptique permet, entre autres, d'enregistrer de nouvelles séquences motrices et de les améliorer, de mémoriser de nouvelles informations ou encore d'associer une émotion avec un environnement ou une situation donnée. C'est par ce mécanisme que les informations seront enregistrées à long terme dans le cerveau et permettront d'apprendre et de s'adapter.

Depuis les 20 à 30 dernières années, de plus en plus d'études démontrent une relation claire entre l'activité du récepteur mGluR₅ et les mécanismes cellulaires responsables de la plasticité synaptique (Bhattacharyya 2016). Dans la prochaine section, la signalisation intracellulaire et la base des mécanismes de plasticité synaptique médiés par le récepteur mGluR₅ seront brièvement décrits.

1.2.3 Activation du récepteur mGluR₅

Le récepteur mGluR₅, comme la plupart des RCPGs, sert de transit entre un signal extracellulaire (le glutamate) et un signal intracellulaire (activation de protéines effectrices). Situé presque en totalité sur les neurones postsynaptiques, il cause des changements intracellulaires au niveau des dendrites faisant synapse avec le neurone présynaptique.

La transmission du signal par mGluR₅ se fait via la protéine G hétérotrimérique G α_q , qui engendre l'activation de la phospholipase C (PLC). Une fois active, la PLC hydrolysera des phospholipides membranaires : le phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP₂), pour former l'inositole 1, 4, 5-triphosphate (IP₃) et le diacylglycerol (DAG). L'IP₃ ira activer son récepteur au niveau du réticulum endoplasmique ce qui aura comme résultat une relâche importante de Ca²⁺. De l'autre côté, la DAG activera la protéine kinase C (PKC) qui ira activer différentes voies de signalisation (**Figure 1.10**) (Pin and Duvoisin 1995, Conn and Pin 1997).

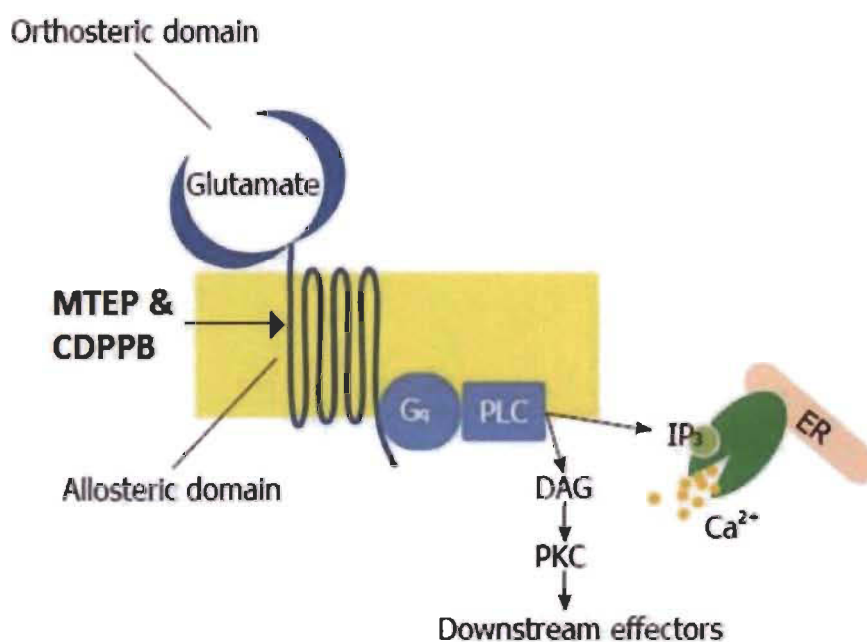


Figure 1.10 Signalisations intracellulaires du récepteur mGluR₅
(Adaptée de (Ferrigno, Berardo et al. 2017))

En plus de déclencher plusieurs cascades de signalisation, l'activation du récepteur mGluR₅ engendre aussi des interactions directes avec d'autres récepteurs et protéines qui participent à la plasticité synaptique. En effet, le récepteur mGluR₅ interagit avec le récepteur NMDA par le biais de la protéine kinase Ca²⁺/calmoduline-dépendante

II (CaMKII). Au repos, le récepteur mGluR₅ est lié à la CaMKII. Suite à son activation, l'augmentation du calcium intracellulaire via le réticulum endoplasmique va diminuer l'affinité entre CaMKII et mGluR₅ et ainsi permettre l'activation de CaMKII par le calcium. Une fois active, la kinase aura une plus forte affinité envers la sous-unité N2B du récepteur NMDA. Cette nouvelle interaction aura pour effet d'augmenter la perméabilité du récepteur NMDA et ainsi augmenter encore plus la concentration intracellulaire en calcium.

De manière complémentaire, l'activation du récepteur NMDA, qui a également un rôle important dans la plasticité synaptique, augmente l'activité du récepteur mGluR₅ en diminuant sa désensibilisation normalement induite suite à son activation soutenue (Alagarsamy, Marino et al. 1999, Alagarsamy, Rouse et al. 2002). En effet, ces deux récepteurs agissent de pair et permettent le bon déroulement des mécanismes cellulaires qui régulent la plasticité synaptique. Toutefois une trop grande activité de ces récepteurs peut causer une concentration de calcium trop élevée et toxique pour la cellule et induire la mort cellulaire (Marambaud, Dreses-Werringloer et al. 2009, Zundorf and Reiser 2011). Un mécanisme de sécurité s'est développé dans l'évolution. Lors d'une activation importante du récepteur mGluR₅, le site de liaison de la CaMKII sera phosphorylé par la PKC, elle-même activée par mGluR₅ (**Figure 1.10**). Cette phosphorylation empêchera temporairement ce dernier de transmettre un signal lors d'une prochaine activation par le glutamate ou autres agonistes. Ce mécanisme de rétro-inhibition est essentiel pour prévenir la neuro-toxicité dû au calcium et la surexcitation des neurones postsynaptiques (Alagarsamy, Rouse et al. 2002).

L'ensemble de ces mécanismes cellulaires activeront plusieurs protéines calcium-dépendantes et plusieurs voies de signalisation intracellulaires qui mèneront à la transcription de plusieurs gènes nécessaires à l'induction de la plasticité synaptique tels que Homer 1a, Arc et ERK 1/2 (Shiflett and Balleine 2011, O'Riordan, Gerstein et al. 2014, Wilkerson, Albanesi et al. 2018). Bien que le récepteur mGluR₅ n'agisse pas seul, il est sans aucun doute un acteur important dans les mécanismes cellulaires qui régulent la plasticité synaptique et qui maintiennent l'intégrité cellulaire. Évidemment seul les principaux effecteurs ont été décrits, mais il va de soi que l'activation du récepteur mGluR₅ engendre l'activation de voies de signalisation beaucoup plus complexes.

1.3 Neurophysiologie du récepteur mGluR₅

1.3.1 Distribution du récepteur mGluR₅

La plasticité synaptique est un des mécanismes neuronaux les plus importants pour le développement et le bon fonctionnement de notre cerveau. Comme le récepteur mGluR₅ est un acteur important dans ce mécanisme, son expression est en effet répandue dans plusieurs régions cérébrales. Toutefois, une analyse d'immunohistochimie sur un cerveau de rat a démontré une expression plus marquée dans certaines régions spécifiques du cerveau, dont notamment : le cortex (préfrontal +++), le striatum, le noyau accumbens (striatum ventral), l'hippocampe, le thalamus, l'amygdale et le bulbe olfactif (Shigemoto, Nomura et al. 1993). Il s'avère que la majorité de ces structures font partie de deux grands systèmes neuronaux, soit le système limbique et le système moteur.

1.3.2 mGluR₅ et le système limbique

Le système limbique se compose de différentes structures situées sur la face médiale des hémisphères cérébraux ainsi que dans le diencephale et permet notamment la régulation émotionnelle et la mémorisation. Les principales régions limbiques incluses entre autre le corps amygdaloïde, le noyau accumbens (striatum ventral), l'hippocampe et le thalamus (Terbeck, Akkus et al. 2015). En plus d'être inter-reliées entre-elles, ces structures communiquent également avec d'autres régions du SNC. Une de ces régions est l'hypothalamus. L'hypothalamus, en plus d'assurer plusieurs fonctions viscérales, joue le rôle de relais entre les influx nerveux provenant du système limbique et l'expression des comportements émotionnels. De plus, ces régions communiquent avec différentes régions corticales, permettant ainsi de réagir émotionnellement aux événements dont nous sommes conscient (cortex préfrontal) et d'associer certaines émotions à ce qui nous entoure (lobes temporal, occipital et pariétal) (Marieb and Hoehn 2010). Plusieurs autres régions (gyrus du cingulum, septum pellucidum, bulbe olfactif, etc.) font partie intégrale du système limbique.

L'ensemble des structures ci-haut énumérées qui participent au fonctionnement du système limbique, agissent de concert afin de permettre l'expression des émotions telles que la peur, le stress, l'agressivité ou le plaisir. Il est connu que le glutamate est important dans la régulation de ces émotions; mais il est d'autant plus intéressant de noter que les structures responsables de ces comportements expriment fortement le récepteur mGluR₅ (Shigemoto, Nomura et al. 1993). Cette relation entre le récepteur mGluR₅ et le système limbique a mené à plusieurs études précliniques chez différents modèles

animaux. Celles-ci ont révélées le rôle important du récepteur mGluR₅ dans l'apparition de symptômes reliés à différentes affections du SNC, dont notamment les troubles anxieux.

1.3.2.1 mGluR₅ et l'anxiété

L'anxiété se traduit par une émotion désagréable qui se caractérise par des symptômes physiques (sueurs, tremblements, augmentation de la fréquence cardiaque, etc.) et des pensées anxieuses (inquiétudes, stress, etc.). Elle peut survenir dans divers troubles psychologiques comme les troubles anxieux généralisés, les troubles de paniques, la dépression ou le trouble obsessionnel-compulsif (TOC). Ces troubles psychiatriques entraînent une altération importante du fonctionnement social et professionnel, entraînant des coûts de santé et des souffrances pour les patients (McLaughlin, Behar et al. 2008). Les traitements actuels les plus utilisés (benzodiazépines) causent des effets secondaires importants et handicapants pour les patients (étourdissement, somnolence, dépendance etc.)(Uzun, Kozumplik et al. 2010). Il est donc primordial de développer de nouveaux traitements mieux adaptés au corps humain.

Depuis les 30 dernières années, les chercheurs démontrent de plus en plus d'évidences que le récepteur mGluR₅ serait important dans la pathogénèse de l'anxiété et pourrait donc être une cible thérapeutique intéressante. Swanson, Bures et al. (2005) ainsi que Riaza Bermudo-Soriano et al. (2012) ont passé en revue les différentes études ayant été faites chez les animaux et portant sur les comportements analogues à l'anxiété. Par

exemple, son inhibition par des NAMs a causé chez les rongeurs une diminution de la peur conditionnée par un stimulus, une plus grande tolérance aux stimuli douloureux et une augmentation des interactions sociales (Riaza Bermudo-Soriano, Perez-Rodriguez et al. 2012). De plus, lors du « Elevated Plus Maze », un des tests les plus utilisés dans l'évaluation des comportements anxieux lors d'études précliniques chez les rongeurs, une dose unique de NAM a prolongé le temps passé par les rongeurs dans les bras ouverts du labyrinthe expérimental, démontrant clairement une diminution des symptômes de l'anxiété (Tatarczynska, Klodzinska et al. 2001, Klodzinska, Tatarczynska et al. 2004, Pietraszek, Sukhanov et al. 2005, Ticha, Mikulecka et al. 2011, Kumar, Hapidin et al. 2013). La revue de littérature exécutée par Swanson et Riaza a permis de conclure que l'inhibition du récepteur mGluR₅ par modulateurs allostériques négatifs cause dans plus de 85% des cas un effet anxiolytique chez les modèles animaux (Swanson, Bures et al. 2005, Krystal, Mathew et al. 2010, Riaza Bermudo-Soriano, Perez-Rodriguez et al. 2012). En plus de cette littérature bien établie, durant les 5 dernières années, certains chercheurs ont développé sur le sujet. Certains chercheurs ont étudiés des mécanismes physiologiques, tels que l'inflammation ou la relâche d'endocanabinoïde, susceptibles d'affecter le fonctionnement normal du récepteur mGluR₅ et ainsi causer des troubles anxieux (Arsenault, Zhu et al. 2014, Almeida-Santos, Moreira et al. 2017). D'autres part, des chercheurs ont développés de nouvelles molécules dans l'optique de faire des études cliniques et évaluer les effets de la modulation de mGluR₅ chez l'humain (Bates, Rodriguez et al. 2014, Nickols, Yuh et al. 2016). Dans la plupart de ces études, le dérèglement de l'activité normale du récepteur mGluR₅ affectait les comportements anxieux.

Il reste beaucoup de travail avant de comprendre complètement les mécanismes qui permettent à ce récepteur de réguler les comportements anxieux. Chose certaine, les traitements actuels causent un trop grand nombre d'effets secondaires ce qui oblige le développement de nouvelles approches thérapeutiques. Ce besoin clinique non comblé pousse les chercheurs à développer de nouvelles molécules viables chez l'humain et de procéder à des essais cliniques. Certains analogues du MTEP sont présentement en études cliniques. Ces études seront décrites un peu plus loin.

1.3.2.2 mGluR₅ et les autres pathologies

L'expression du récepteur mGluR₅ dans différentes régions cérébrales explique pourquoi il semble être impliqué dans l'apparition des symptômes ou la pathogénèse de différentes maladies neurologiques telles que : le Syndrome du X Fragile, les troubles de dépression majeure, les dystonies, les dyskinésies induites par la Levo-Dopa (LID) dans le traitement de la maladie de Parkinson, l'autisme ou encore la douleur chronique (Emmitte 2013, Emmitte 2017). Il s'agit ici de plusieurs types de pathologies qui se développent par une panoplie de mécanismes cellulaires qui ne sont malheureusement pas encore compris à ce jour. Les liens qui se tissent entre ce récepteur glutamatergique et les différentes affections neurologiques renforcent l'importance de bien comprendre les fonctions de ce récepteur dans notre cerveau.

1.3.3 mGluR5 et le système moteur

Le système moteur est un ensemble de structures situées autant dans les régions corticales que sous-corticales qui permettent à notre corps d'exécuter des mouvements fluides et coordonnés avec notre environnement. Plus précisément, lorsque nous exécutons un mouvement volontaire, le cortex préfrontal définit l'action à réaliser et planifie le mouvement pour ensuite transmettre les instructions à l'aire motrice supplémentaire et au cortex pré-moteur qui organisent et produisent les séquences motrices. Celles-ci sont ensuite transmises au cortex moteur, qui donnera l'ordre d'exécuter le mouvement en véhiculant l'information à la moelle épinière. Pour la réalisation de mouvement harmonieux, le cortex opère avec deux autres structures : le striatum et le cervelet. Chacune de ces structures participe à sa manière au contrôle du mouvement en formant les réseaux cortico-striatal et cortico-cérébelleux respectivement. Bien qu'ils soient tous les deux essentiels au bon déroulement de l'élaboration d'un mouvement fluide, seul le réseau cortico-striatal sera approfondi dans cet ouvrage.

Le réseau cortico-striatal relie par des neurones glutamatergiques le cortex au striatum, qui est le point d'entrée d'un réseau de noyaux sous-corticaux interconnectés et hautement organisés: les ganglions de la base. Les informations qui proviennent des différentes aires corticales sont acheminées de manière topographique à travers les ganglions de la base, puis redirigées vers le cortex en passant par le thalamus. De cette manière, les ganglions de la base forment une série de boucles fonctionnant parallèlement et ayant des fonctions semblables aux aires corticales qui les alimentent (Parent and Hazrati 1995). Cette organisation anatomique permet à l'ensemble de ces structures de ne

pas être uniquement impliquées dans des fonctions motrices, comme il fut longtemps considéré, mais de jouer aussi un rôle dans des fonctions comme l'apprentissage, les actions motivées par un but et la formation des habitudes (Alexander, DeLong et al. 1986, Redgrave, Rodriguez et al. 2010). Parmi les fonctions qu'assurent le système moteur, l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice est primordiale pour permettre d'optimiser nos mouvements et éviter les incidents.

Dans le système moteur, l'hippocampe et le noyau accumbens (striatum ventral) s'avèrent très importants dans l'apprentissage et la mémorisation motrice. Lors de l'apprentissage moteur, les séquences motrices sont effectuées de manière répétée et plusieurs séances d'entraînement sont nécessaires. L'apprentissage et la mémorisation de ces séquences se fait donc de façon graduelle à travers la pratique. Une fois apprise et mémorisée, la tâche motrice pourra être rapidement effectuée malgré une période prolongée sans pratique (Karni, Meyer et al. 1998, Ungerleider, Doyon et al. 2002, Doyon, Bellec et al. 2009). D'après les travaux de Kami, Doyon et leurs collaborateurs, les processus d'apprentissage et de mémorisation impliquent diverses phases et structures cérébrales. Tout d'abord, on observe une phase d'apprentissage rapide durant laquelle une large amélioration des performances et de la capacité à réaliser les séquences motrices est observée. La phase d'apprentissage rapide correspond à la première séance d'entraînement. Durant cette phase, les réseaux cortico-cérébelleux et cortico-striatal sont activés. Ces réseaux participent à l'émergence de plans moteurs et l'élaboration d'une stratégie optimale d'exécution. Ensuite, il y a la phase de consolidation. La consolidation est le processus par lequel la représentation neuronale des séquences motrices sera stabilisée durablement. Durant cette phase, l'activité de l'hippocampe, du striatum et du

noyau accumbens est augmentée. La consolidation est influencée par des facteurs tels que le sommeil. Elle permet de maintenir, voire d'augmenter, les performances lors de l'initiation de la deuxième séance d'entraînement. La deuxième séance ainsi que les séances d'entraînement ultérieures représentent la phase d'apprentissage lente. Lors de cette phase, le gain de performance se fait graduellement à travers les différentes séances d'entraînement. L'augmentation des performances pour chaque séance d'entraînement est moindre comparativement à celle observée durant la première séance d'entraînement. Lors de cette phase, l'implication du réseau cortico-striatal augmente alors que l'implication du réseau cortico-cérébelleux diminue. Ces réseaux contribuent à la stabilisation des performances, l'automatisation et le maintien à long terme de la tâche motrice (Karni, Meyer et al. 1998, Ungerleider, Doyon et al. 2002, Doyon, Bellec et al. 2009, Bureau, Carrier et al. 2010).

Le cortex, le striatum, le noyau accumbens, le thalamus et l'hippocampe sont tous des structures qui reçoivent des afférences glutamatergiques et qui expriment en grande quantité le récepteur mGluR₅. La présence de ce récepteur dans ces structures soulève plusieurs questions par rapport à sa potentielle implication dans différentes pathologies reliées à la motricité.

1.3.3.1 mGluR₅ et l'exécution motrice

L'exécution motrice est importante dans la vie de tous les jours et peut malheureusement être altérée dans une multitude d'affections neurologiques. La présence du récepteur mGluR₅ dans les régions qui régulent les fonctions motrices a poussé

plusieurs chercheurs à essayer de comprendre le rôle de ce récepteur dans le développement de ces maladies.

En effet, de plus en plus d'études démontrent une relation entre les niveaux d'expression du récepteur mGluR₅ et l'apparition des LID dans la maladie de Parkinson (Gregoire, Morin et al. 2011, Morin, Gregoire et al. 2013, Dekundy, Mela et al. 2015). Certains ont trouvés un lien entre mGluR₅ et la maladie de Huntington (Ribeiro, Hamilton et al. 2014, Doria, de Souza et al. 2018) ou encore avec l'hyper-locomotion induite par l'administration de cocaïne (Herzig and Schmidt 2004, McGeehan, Janak et al. 2004). Il a aussi été rapporté que le récepteur mGluR₅ serait important dans la rémission et la neuro-protection chez les traumatisés crâniens (Loane, Stoica et al. 2014). Il est évident que mGluR₅ est important dans plusieurs contextes pathologiques, toutefois, l'impact de la modulation de ce récepteur sur la simple motricité est un peu plus ambigu. Plusieurs études se sont concentrées sur la locomotion, soit la tendance des souris à augmenter ou diminuer leur distance parcourue dans un intervalle de temps. Plusieurs n'ont observé aucun changement suite à l'inhibition du récepteur mGluR₅ (Tatarczynska, Klodzinska et al. 2001, Henry, Lehmann-Masten et al. 2002, Kinney, Burno et al. 2003, Homayoun, Stefani et al. 2004, Naie and Manahan-Vaughan 2004, Li, Need et al. 2006, Belozertseva, Kos et al. 2007), alors que d'autres ont montré soit une diminution (Spooren, Gasparini et al. 2000, Zhu, Wilson et al. 2004, Pietraszek, Gravius et al. 2005, Varty, Grilli et al. 2005, Koros, Rosenbrock et al. 2007, Nicolas, Klein et al. 2007, Christoffersen, Simonyi et al. 2008, Jacob, Gravius et al. 2009) ou une augmentation de la locomotion (Montana, Conrardy et al. 2011, Ribeiro, Hamilton et al. 2014). La diversité de ces résultats démontre que le rôle de ce récepteur dans la locomotion n'est pas bien compris. De plus,

dans la plupart des cas, la locomotion a été évaluée avec le test « Open field », qui consiste à mettre la souris dans un enclos fermé afin d'observer ses déplacements. De façon générale, c'est un test intéressant qui permet de vérifier une hyper ou une hypoactivité chez les rongeurs. Toutefois, il ne permet pas d'affirmer avec précision que les changements dans la locomotion sont dus à un problème moteur. Le désir d'explorer le nouvel environnement ou l'anxiété causée par celui-ci pourrait effectivement influencer grandement les résultats (Guimaraes, Carvalho et al. 2015)

Ces études démontrent bien les multiples implications que peut avoir le récepteur mGluR₅ dans le bon fonctionnement du système moteur et de notre cerveau. Par contre, il reste à ce jour beaucoup à découvrir sur le rôle de ce récepteur dans des conditions neurophysiologiques normales et sur les capacités motrices.

1.3.3.2 mGluR₅ et l'apprentissage moteur

L'apprentissage d'une nouvelle tâche motrice, tel que décrit précédemment, régit des mécanismes de plasticité synaptique complexes étalés sur plusieurs phases d'apprentissage et dans plusieurs régions du cerveau. Étant exprimé en grande quantité dans l'hippocampe (le centre de la mémoire), le récepteur mGluR₅ semble être important pour la mémorisation de tout genre.

Il a en effet été démontré que la diminution de l'activité de mGluR₅ par un « knockout » génétique ou par un traitement pharmacologique affectait les capacités de mémorisation spatiale durant les phases d'acquisitions dans le « Morris water maze » (Ballard, Woolley et al. 2005, Steckler, Oliveira et al. 2005, Jacob, Gravius et al. 2009,

Xu, Zhu et al. 2009) et dans le « Radial arm maze » (Balschun and Wetzel 2002, Homayoun, Stefani et al. 2004, Manahan-Vaughan and Braunewell 2005, Gravius, Dekundy et al. 2008). Toutefois, d'autres études ont démontré que cette inhibition n'avait aucun impact sur la mémorisation spatiale lors de différents tests comportementaux du même type (Petersen, Bomme et al. 2002, Campbell, Lalwani et al. 2004, Ballard, Woolley et al. 2005, Semenova and Markou 2007). De plus, l'inhibition de mGluR₅ cause également des déficits dans d'autres types de mémoire tels que dans l'apparition de la peur face à un stimulus stressant (mémoire associative) (Lu, Jia et al. 1997, Rodrigues, Bauer et al. 2002, Gravius, Dekundy et al. 2008, Jacob, Gravius et al. 2009, Xu, Zhu et al. 2009), dans l'apprentissage de l'évitement d'un stimulus douloureux (Gravius, Pietraszek et al. 2005, Simonyi, Schachtman et al. 2005, Genkova-Papazova, Petkova et al. 2007, Simonyi, Serfozo et al. 2007, Jacob, Gravius et al. 2009), dans la mémoire sensorielle du goûter (Schachtman, Bills et al. 2003) ou encore la reconnaissance des objets (Barker, Bashir et al. 2006, Christoffersen, Simonyi et al. 2008).

Il paraît de plus en plus évident que le récepteur mGluR₅ est important dans différents processus de mémorisation et d'apprentissage. Par contre, son rôle reste inconnu pour ce qui est de l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice.

1.4 mGluR₅ comme nouvelle cible thérapeutique

L'intérêt apporté au récepteur mGluR₅ dans le milieu préclinique a poussé certains laboratoires de neuropharmacologie à développer des molécules viables pour l'administration humaine dans l'optique de procéder à des études cliniques. Plusieurs analogues des molécules utilisées chez les rongeurs (MPEP et MTEP) ont été synthétisés

dans les 5 à 10 dernières années et plusieurs d'entre eux ont été testés en études cliniques (Felts, Rodriguez et al. 2013, Felts, Rodriguez et al. 2017). Ces NAM du récepteur mGluR₅ ont été utilisés dans plusieurs contextes, dont notamment dans le traitement des LID, contre les troubles dépressifs majeurs, contre les reflux gastro-œsophagiens, pour le traitement des symptômes du syndrome du X fragile, contre la douleur chronique ou encore contre l'anxiété (Emmitte 2013, Emmitte 2017).

Malheureusement, à ce jour aucune étude clinique n'a été concluante. De façon générale, celles-ci se sont arrêtées en phase II en raison de divers effets secondaires ou encore à cause d'un manque de concordance entre les différentes études. Avec de tels résultats, il est primordial de mieux comprendre le rôle du récepteur mGluR₅ dans les diverses fonctions cérébrales afin de développer des molécules viables avec un avenir thérapeutique. C'est dans cette optique qu'il m'apparaît intéressant d'évaluer l'impact de la modulation négative et positive du récepteur mGluR₅ sur les comportements anxieux, mais également sur les comportements reliés à la motricité. Bien que le récepteur mGluR₅ soit le centre d'attention de plusieurs équipes de recherche pour son potentiel avenir thérapeutique dans différentes pathologies, très peu d'études ont investigué l'impact de sa modulation sur les capacités motrices, dans l'apprentissage et dans la mémorisation motrice.

CHAPITRE II

HYPOTHÈSE DE RECHERCHE

L'objectif principal de mon projet de recherche est d'investiguer l'impact de la modulation du récepteur mGluR₅, par injection systémique de NAM et de PAM, sur la régulation des comportements anxieux et moteurs chez la souris.

Mon premier objectif spécifique fut de reproduire l'effet anxiolytique bien documenté du modulateur allostérique négatif MTEP. Pour se faire, les souris ont reçu une injection intrapéritonéale de MTEP (20 mg/kg) cinq minutes avant d'être soumises à deux tests anxiogènes : « Elevated Plus Maze » et « Light/Dark transition ». L'exécution de ces deux tests comportementaux fut enregistrée avec une caméra vidéo afin de pouvoir analyser plusieurs types de comportements. Ils furent ensuite analysés et comparé avec le groupe témoin. Un effet anxiolytique du MTEP, similaire à ce qui avait été observé, était attendu.

Un des meilleurs moyens de comprendre le rôle d'une protéine ou d'un récepteur est de bloquer son activité normale. C'est en partie la raison pour laquelle l'inhibition allostérique du récepteur mGluR₅ a été sujette à autant d'intérêt. Toutefois, pour bien comprendre son rôle dans le cerveau, il est important d'investiguer l'effet de sa modulation positive. De ce fait, mon deuxième objectif spécifique était d'évaluer l'impact de la modulation allostérique positive du récepteur mGluR₅ par le CDPBB sur les comportements anxieux. Les souris ont alors reçu une injection intrapéritonéale de CDPBB (3 mg/kg) vingt minutes avant d'être soumises aux deux mêmes tests

anxiogènes. Par la suite, les mêmes analyses comportementales exécutées dans le protocole avec le MTEP furent complétées. Un effet opposé à celui occasionné par le MTEP, soit une augmentation des comportements anxieux, fut attendu puisque la molécule injectée module positivement l'activité du récepteur

Par sa présence dans les structures responsables de l'exécution motrice et par son rôle dans la plasticité synaptique, l'activité du récepteur mGluR₅ est impliquée dans certains troubles moteurs occasionnés par certaines maladies neurodégénératives ou leurs traitements. Son rôle dans les habiletés motrices d'un cerveau en santé reste toutefois à ce jour inconnu. Le troisième objectif spécifique était d'investiguer l'impact de la modulation négative et positive du récepteur mGluR₅ sur la coordination, l'équilibre, la force musculaire, les mouvements volontaires ainsi que la locomotion. Les souris doivent donc exécuter différents tests moteurs : « Pole test », « Beam test », « Wire test », « Stepping test » et le « Cylinder test ». Comme pour les tests d'anxiété, ces tests sont enregistrés et finalement analysés. Puisque mGluR₅ est important dans la plasticité synaptique dans les régions cérébrales qui permettent la motricité, mon hypothèse est que sa modulation pharmacologique affectera les habiletés motrices chez la souris.

Il est bien établi dans la littérature que le récepteur mGluR₅ est important dans différents types de mémoire. Toutefois, son implication dans la mémorisation d'une tâche motrice est toujours inconnue à ce jour. Mon dernier objectif spécifique était donc d'investiguer le rôle potentiel du récepteur mGluR₅ dans l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice. Pour y arriver, j'ai utilisé le test de Rotarod en accélération. Ce test est largement reconnu et utilisé dans l'évaluation des capacités d'apprentissage. Les souris ont été soumises, sur quatre jours, à quatre sessions

d'entraînement sur Rotarod avant lesquelles elles ont reçu le même traitement pharmacologique (MTEP ou CDPPB). D'après le rôle important du récepteur mGluR₅ dans la plasticité synaptique et son implication déjà documenté dans différents types de mémorisation, la modulation de son activité devrait affecter l'apprentissage d'une tâche motrice complexe telle que le Rotarod.

CHAPITRE III

MATERIALS AND METHODS

3.1 Animaux

Pour toutes les expériences, des souris mâles C57bl/6j (Charles River, St-Constant, QC, Canada) âgées de dix semaines ont été utilisées. Elles ont été logées individuellement dans un environnement dans lequel la température et l'humidité étaient contrôlés. De plus, les souris étaient hébergées dans un local éclairé douze heures sur vingt-quatre heures (de sept heures le matin à dix-neuf heures le soir) et avaient accès à de l'eau et à de la nourriture *ad libitum*. Toutes les expériences et les procédures ont été approuvées par le *Comité de protection et d'utilisation des animaux* de l'UQTR et exécutées conformément au Conseil canadien de protection des animaux.

3.2 Procédure expérimentale

La figure 3.1 expose la chronologie des manipulations accomplies pour la réalisation de mon projet. De façon générale, le projet s'est subdivisé en deux protocoles, un pour évaluer les comportements anxieux (4 jours), alors que l'autre pour les comportements moteurs (10 jours). La description complète des procédures expérimentales est détaillée dans la figure 3.1.

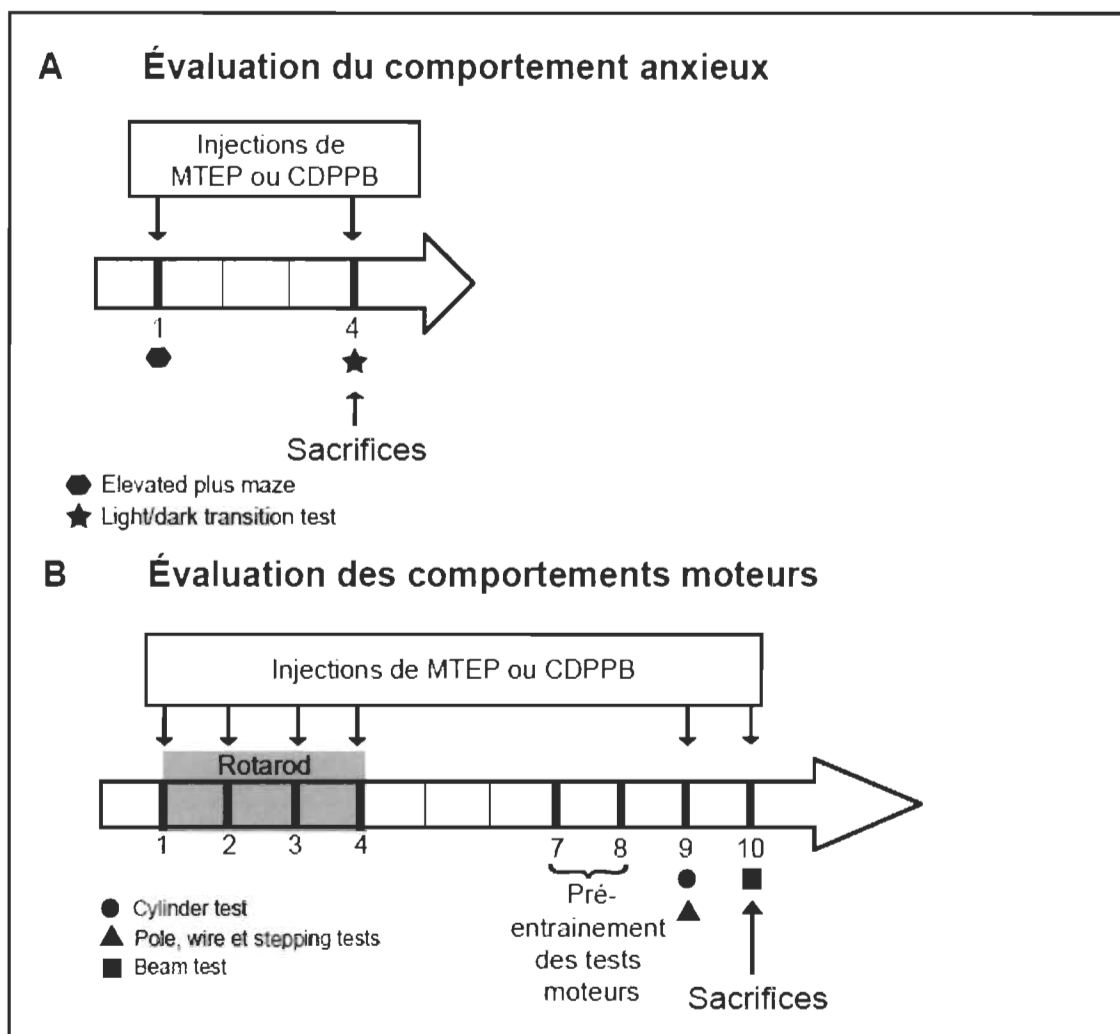


FIGURE 3.1 Procédures expérimentales.

Pour les deux protocoles, les souris ont reçu une injection intrapéritonéale de 20 mg/kg de MTEP ou 3 mg/kg de CDPPB et ont été comparées à leur groupe témoin respectif (Eau physiologique 0.9% NaCl ou DMSO/PEG-400). (A) Pour le protocole «Évaluation du comportement anxieux», les souris ont reçu une injection de MTEP ou CDPPB, respectivement 5 ou 20 minutes avant chaque test. Entre les deux tests, deux jours de repos ont été laissés aux souris. Immédiatement après le dernier test (« Light/Dark transition test »), les souris ont été sacrifiées. (B) Pour le protocole "Évaluation des comportements moteurs", les souris ont reçu une injection de MTEP ou CDPPB, respectivement 5 ou 20 minutes avant chaque session de Rotarod (jours 1, 2, 3 et 4) et avant les tests moteurs (jours 9 et 10). Après la dernière session de Rotarod, deux jours de repos ont été laissés aux souris avant de commencer l'entraînement pour les tests moteurs aux jours 7 et 8. Finalement, les souris ont effectué les tests moteurs aux jours 9 et 10 et ont ensuite été sacrifiées après le dernier test moteur (« Beam test »).

3.3 Tests comportementaux

Tous les tests comportementaux ont été effectués par les souris durant la période lumineuse du cycle lumière-obscurité (entre 7h00 et 19h00) et plus précisément en début de journée à partir de 8h30. Avant chaque session expérimentale, afin de limiter le stress induit par un nouvel environnement, les souris étaient transportées dans la salle de comportement minimum 30 minutes avant le début des tests.

3.3.1 Tests moteurs

Les cinq tests suivants ont été effectués aux jours 9 et 10, alors que les séances d'entraînement ont été effectuées aux jours 7 et 8 pour le « Beam test », le « Pole test » et le « Wire test » afin de s'assurer que les tâches étaient bien apprises (**Figure 3.1**)

3.3.1.1 « Pole test »

Le « Pole test » est constitué d'une tige verticale (diamètre: 1,5 cm, longueur: 50 cm) fixée sur une plate-forme avec un disque plat à son extrémité supérieure (**Figure 3.2**). La coordination et les capacités motrices générales sont évaluées durant ce test. Les souris sont placées sur l'extrémité supérieure de la tige faisant face à la plate-forme supérieure. Le temps requis pour que les souris se retournent et descendent la tige verticale a été mesuré. Contrairement à la méthodologie originale décrite par (Ogawa, Hirose et al. 1985), un temps maximum de 60 secondes a été autorisé pour exécuter la tâche afin de

normaliser les performances avec les autres tests (dont le temps maximal est de 60 secondes).



Figure 3.2 « Pole test »

3.3.1.2 « Wire test »

Le « Wire test » évalue aussi la coordination, mais également la force musculaire des souris (Sedelis, Hofele et al. 2000). Le fil (longueur: 80 cm, hauteur: 25 cm) est fixé horizontalement entre deux plates-formes sur lesquelles est placée de la nourriture afin d'indiquer le point d'arrivée aux souris (**Figure 3.3**). Chaque animal est accroché par les pattes (la tête en bas) au milieu du fil et le temps nécessaire pour atteindre une des deux plateformes a été enregistré. Le temps maximum autorisé est de 60 secondes.



Figure 3.3 « Wire test »

3.3.1.3 « Beam test »

Tel que décrit précédemment (Luong, Carlisle et al. 2011), le « Beam test » évalue l'équilibre et la coordination des souris. Ce test consiste à une poutre de 1 mètre avec une surface plate de 12 ou 6 mm de largeur. Les poutres étaient maintenues sur deux supports situés à 50cm du sol. Une boîte noire est située à une des extrémités de la poutre comme point d'arrivée, alors qu'une lampe est située à l'autre extrémité afin de, par sa luminosité, servir de point de départ et de stimulus aversif. Le temps mis par les souris pour traverser les poutres a été mesuré. Une caméra vidéo a été installée sur un trépied afin d'enregistrer les performances.



Figure 3.4 « Beam test »

3.3.1.4 « Stepping test »

Comme nous l'avons décrit précédemment (Lemay-Clermont, Robitaille et al. 2011), le « Stepping test » a été conçu pour évaluer les déficits asymétriques moteurs. Toutefois, dans cette étude, le test est utilisé pour vérifier la capacité des souris à initier un mouvement volontaire. Le test a été effectué sur une table sur laquelle les souris ont été tirées sur une longueur de 1 mètre délimité par deux traits. D'abord, l'animal a été autorisé à se reposer sur le point de départ sur la table pendant quelques secondes.

Ensuite, les pattes arrière de l'animal ont été soulevées en tirant la queue, ne laissant que les pattes avant sur la table. Puis, à une vitesse constante d'environ 15 à 20 cm par seconde (pour une distance totale de 1 m), l'animal est tiré vers l'arrière par la queue, jusqu'à ce que la distance de 1m soit parcourue. Chaque essai a été enregistré en utilisant une caméra vidéo, et pour chaque essai le nombre de réajustements pour chacune des pattes avant sont calculé.

3.3.1.5 « Cylinder test »

Le « Cylinder test » est également un bon test pour détecter une déficience motrice unilatérale (Brooks and Dunnett 2009). Toutefois, ayant injecté de manière systémique les molécules, j'ai utilisé ce test pour évaluer la variabilité de la locomotion. Les souris ont été placées dans un b cher de 2 litres (cylindre) et film es avec un équipement vidéo sous le cylindre. La locomotion a été mesur e par la quantification du nombre de pas des pattes postérieures, le nombre de contacts avec les parois par les pattes antérieures et le nombre de redressement sur les pattes postérieures dans le cylindre. Afin de vérifier si la souris n' st pas affect e par une composante externe au test (stress, peur, etc.) le temps de toilettage a été mesuré.



Figure 3.5 « Cylinder test »
 (Tirée du site « Neurofit », accessible à l'adresse
 suivante : <http://www.neurofit.com/tech-anim-cylinder.html>)

3.3.1.6 Rotarod en accélération

Pour évaluer l'apprentissage moteur, j'ai utilisé une tâche motrice complexe : le Rotarod en accélération. Les performances des souris sur le Rotarod (AccuScan Instruments, Columbus, OH, USA), qui accélère de 4 à 40 tours/minutes en 300 secondes, ont été évaluées pour 8 essais par session pendant quatre jours consécutifs (**Figure 3.1**). Les souris avaient un temps de repos de 180 secondes entre chaque essai. La fin d'un essai était considérée lorsque la souris tombe du cylindre ou quand elle atteint 300 secondes, soit le maximum. Le temps passé sur le Rotarod avant de tomber a été enregistré pour chaque essai.



Figure 3.6 Rotarod

3.3.2 Test d'anxiété.

Les deux tests ont été effectués à 3 jours d'intervalle afin de s'assurer que le stress induit par le premier test au jour 1 (Elevated plus maze) n'influçait pas le comportement des souris lors du deuxième test au jour 4 (Light/Dark transition test) (**Figure 3.1**).

3.3.2.1 « Elevated plus maze »

Le « Elevated plus maze » est un excellent test pour l'évaluation des comportements anxieux chez les rongeurs. Le test consiste à une plateforme en forme de croix horizontale surélevée de 60cm. 2 chemins opposés exposés à la pièce sont dit ouverts, alors que les 2 autres chemins sont recouvert de « murs » et sont dit fermés (**Figure 3.7**). Une souris a une nature curieuse, elle voudra découvrir et explorer son nouvel environnement. Toutefois, elle est également craintive, donc elle cherchera aussi à se mettre à l'abri. Le test consiste à placer la souris au centre, face contre un bras fermé, et de la laisser libre dans le module pendant un total de 300 secondes. En mesurant le

temps qu'elle passera dans les bras ouverts versus fermés et en mesurant le nombre de fois qu'elle va explorer les bras ouverts, on pourra analyser ses comportements anxieux.



Figure 3.7 « Elevated plus maze »

3.3.2.2 « Light/Dark transition test »

Le « Light/Dark transition test » est un autre test qui évalue les comportements anxieux chez les rongeurs. Le test a une forme carré, une moitié est couverte par une boîte alors que l'autre est exposé à la pièce. Ces 2 compartiments communiquent entre eux par un petit espace rectangulaire en forme de porte. On positionne la souris dans la région ouverte face à la porte et on calcule le temps qu'elle passe dans la région fermée et la région ouverte ainsi que le nombre de fois qu'elle va dans la région ouverte.

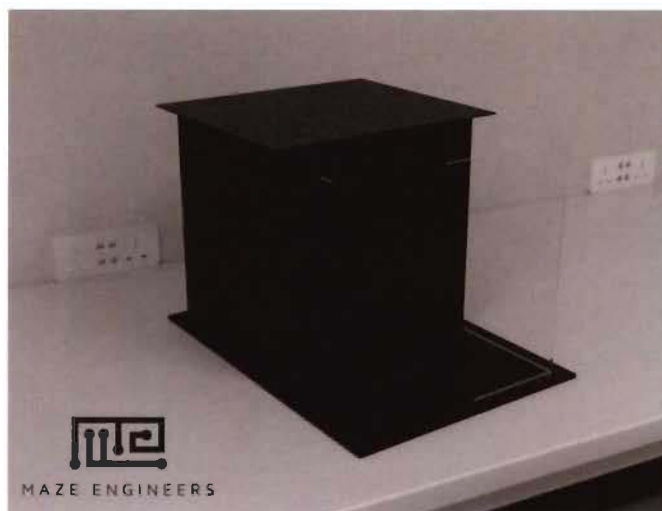


Figure 3.8 « Light/Dark transition »

3.4 Traitements pharmacologiques

Le modulateur allostérique négatif « MTEP » et le modulateur allostérique positif « CDPPB » du récepteur mGluR₅ ont été achetés chez Tocris (ON, Canada). Les deux molécules ont été injectées par voie systémique aux jours 1 et 4 pour l'évaluation du comportement anxieux (**figure 3.1A**) et aux jours 1 à 4, 9 et 10 pour le protocole comportemental moteur (**figure 3.1B**). Lors du traitement avec le MTEP et du groupe contrôle correspondant, soit des souris injectées avec une solution saline (NaCl 0.9%), les souris ont été injectées 5 minutes avant chaque session d'entraînement au Rotarod, test moteur ou test d'anxiété à une dose de 20 mg/kg (Cosford, Tehrani et al. 2003, Swanson, Bures et al. 2005, Krystal, Mathew et al. 2010, Riaza Bermudo-Soriano, Perez-Rodriguez et al. 2012). Lors du traitement avec le CDPPB et de son groupe contrôle correspondant, soit des souris injectées avec une solution de DMSO:PEG400 à un ratio de 1:10 (10µl DMSO & 90µl de PEG400), les souris ont été injectées 20 minutes avant les tests comportementaux à une dose de 3 mg/kg (Lindsley, Wisnoski et al. 2004, Uslaner,

Parmentier-Batteur et al. 2009). Le PEG400 est un liquide visqueux de Polyéthylène Glycol beaucoup utilisé dans les formulations pharmaceutiques.

3.5 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism (version 5.0, logiciel Graph Pad, San Diego, CA, USA). Les données ont été soumises, le cas échéant, à un test t non apparié, une analyse One-Way ANOVA suivi d'un test post hoc de Newman-Keuls, ou une analyse two-way ANOVA suivi d'un test post hoc de Newman-Keuls. Les données ont été rapportées comme la moyenne \pm S.E.M. Un résultat est dit statistiquement significatif lorsque la valeur p est inférieure à 0.05.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS

4.1 Influence de la modulation du récepteur mGluR₅ sur les comportements anxieux

Tel que mentionné précédemment, le récepteur mGluR₅ est connu pour être impliqué dans la régulation des comportements anxieux. J'ai donc confirmé l'effet anxiolytique du modulateur allostérique négatif MTEP et ensuite j'ai investigué l'impact de sa modulation positive par le CDPPB. L'évaluation des comportements liés à l'anxiété a été réalisée en utilisant deux tests : le « Elevated Plus Maze » et le « Light/Dark Transition ».

4.1.1 Validation de l'effet anxiolytique du modulateur allostérique négatif MTEP

La **figure 4.1** montre l'analyse des comportements anxieux chez les souris traitées avec le NAM MTEP et le groupe contrôle respectif (Saline). On peut y voir la quantité de temps passé par les souris dans les régions ouvertes (exposées à l'environnement) et le nombre d'entrée dans les régions ouvertes (transition de la région fermée à la région ouverte). Au niveau du « Elevated Plus Maze » (**Figure 4.1A**), les souris traitées avec le MTEP ont passé plus de temps dans les bras ouverts (test t non apparié, $p < 0.05$) et sont

entrées plus fréquemment dans les bras ouverts (test t non apparié, $p < 0.05$) que les souris contrôles. Les mêmes types de résultat est observé lors du test « Light/Dark Transition » (**Figure 4.1B**). Les souris traitées avec le MTEP, comparativement aux souris contrôles, avaient tendance à passer plus de temps (test t non apparié, $p > 0.05$) dans la région exposée à l'environnement et sont allées significativement plus souvent s'aventurer dans cette région (test t non apparié, $p < 0.05$) que les souris contrôles. Ces résultats suggèrent que les souris traitées avec le MTEP sont moins craintives et donc que le MTEP aurait bel et bien un effet anxiolytique.

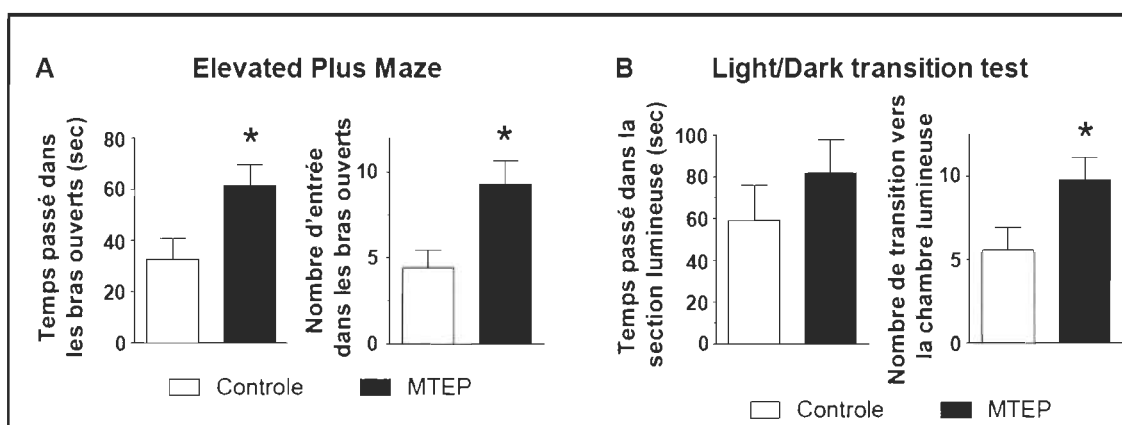


Figure 4.1 Le MTEP atténue les comportements anxieux chez la souris. (A) Lors du ‘‘Elevated plus maze’’, l’évaluation du comportement anxieux était basée sur le temps que les souris passent dans les bras ouverts et sur le nombre d’entrée dans les bras ouverts. **(B)** Lors du ‘‘Light/Dark transition test’’, le temps passé dans la chambre éclairée et le nombre d’entrée dans la chambre éclairée ont été mesurés. Les données représentent les moyennes du nombre de temps ou du nombre d’entrées \pm SEM, $n = 8$ souris / groupe. * $p < 0.05$ versus le groupe contrôle.

4.1.2 L'augmentation de l'activité du récepteur mGluR₅ par le modulateur allostérique positif CDPPB induit une augmentation des comportements anxieux

La **figure 4.2** montre les résultats des deux mêmes tests d'anxiété, mais pour les souris ayant reçu une injection de CDPPB et leur groupe témoin respectif (DMSO/PEG400). La quantité de temps passé par les souris dans les régions ouvertes ainsi que le nombre d'entrée dans les régions ouvertes sont présentés. Lors du test « Elevated Plus Maze » (**Figure 4.2A**), les souris traitées avec le CDPPB ont passé moins de temps dans les bras ouverts (test t non apparié, $p < 0.05$) et sont allées moins souvent explorer les bras ouverts que les souris contrôles (test t non apparié, $p < 0.05$). Lors du « Light/Dark Transition » (**Figure 4.2B**), les souris ayant reçues l'injection de CDPPB, lorsque comparées au groupe témoin (DMSO/PEG400), passent plus de temps dans la région ouverte (test t non apparié, $p < 0.05$) et vont plus souvent s'aventurer dans cette région ouverte (test t non apparié, $p < 0.05$). Ces résultats indiquent que les souris traitées avec le CDPPB sont plus craintive face à ce nouvel environnement. Le CDPPB agit donc comme agent anxiogénique lors de ces tests d'anxiété.

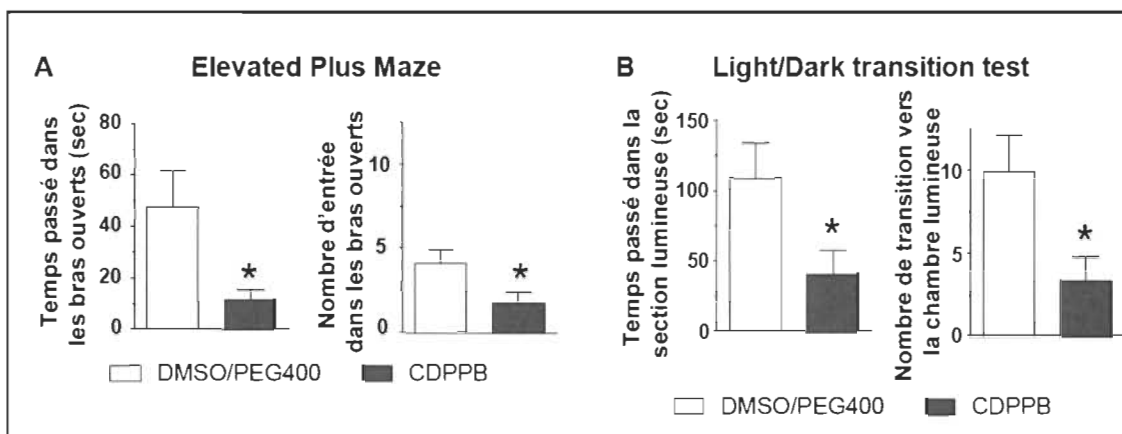


Figure 4.2 Le CDPPB accentue les comportements anxieux chez la souris.
 (A) Lors du "Elevated plus maze", l'évaluation du comportement anxieux était basée sur le temps que les souris passent dans les bras ouverts et sur le nombre d'entrée(s) dans les bras ouverts. (B) Lors du "Light/Dark transition test", le temps passé dans la chambre éclairée et le nombre d'entrée dans la chambre éclairée ont été mesurés. Les données représentent les moyennes du nombre de temps ou du nombre d'entrée \pm SEM, $n = 8$ souris / groupe. * $p < 0.05$ versus le groupe contrôle (DMSO/PEG400).

4.2 Influence de la modulation du récepteur mGluR₅ sur les comportements moteurs

Suite aux résultats obtenus lors de l'évaluation des comportements anxieux, l'étude s'est poursuivie en évaluant l'impact de la modulation du récepteur mGluR₅ sur différents comportements moteurs. Pour l'évaluation des capacités motrices telles que la coordination, l'équilibre, la force musculaire, l'initiation de mouvements volontaire et la locomotion, les souris ont performées différents tests tels que « Pole test », « Wire test », « Beam test », « Stepping test » et le « Cylinder test ». Pour l'évaluation des capacités d'apprentissage et de mémorisation motrice, elles ont suivies une série de sessions

d'entraînement sur Rotarod en accélération. Les résultats de ces tests moteurs en fonction du traitement vous seront présentés dans la prochaine section.

4.2.1 L'administration de MTEP n'affecte pas les capacités motrices

La **figure 4.3** présente la différence de performance des tests moteurs entre le groupe de souris traitées avec le modulateur allostérique négatif MTEP et le groupe témoin (Saline). Pour le « Pole test », le « Wire test » et le « Beam test », le temps requis par les souris pour réaliser la tâche est présenté (**Figure 4.3 A, B & C**). Pour le « Stepping test », le nombre de réajustement des pattes avant est mesuré (**Figure 4.3 D**), et finalement pour le « cylinder test », le nombre de redressement, le temps de toilettage, le nombre de contacts avec la paroi du cylindre ainsi que le nombre de pas avec les pattes arrières sont mesurés (**Figure 4.3 E i à iv**). Les résultats n'indiquent aucune différence significative entre les deux groupes pour tous les tests moteurs évalués. Ces résultats révèlent que la diminution de l'activité du récepteur mGluR₅ n'entraîne pas de déficit de coordination (« Pole test », test t non apparié, $p > 0.05$), de force musculaire (« Wire test », test t non apparié, $p > 0.05$), d'équilibre (« Beam test », test t non apparié, $p > 0.05$), d'exécution de mouvements volontaires (« Stepping test », test t non apparié, $p > 0.05$) ou de locomotion, toilettage et redressement (« Cylinder test », test t non apparié, $p > 0.05$).

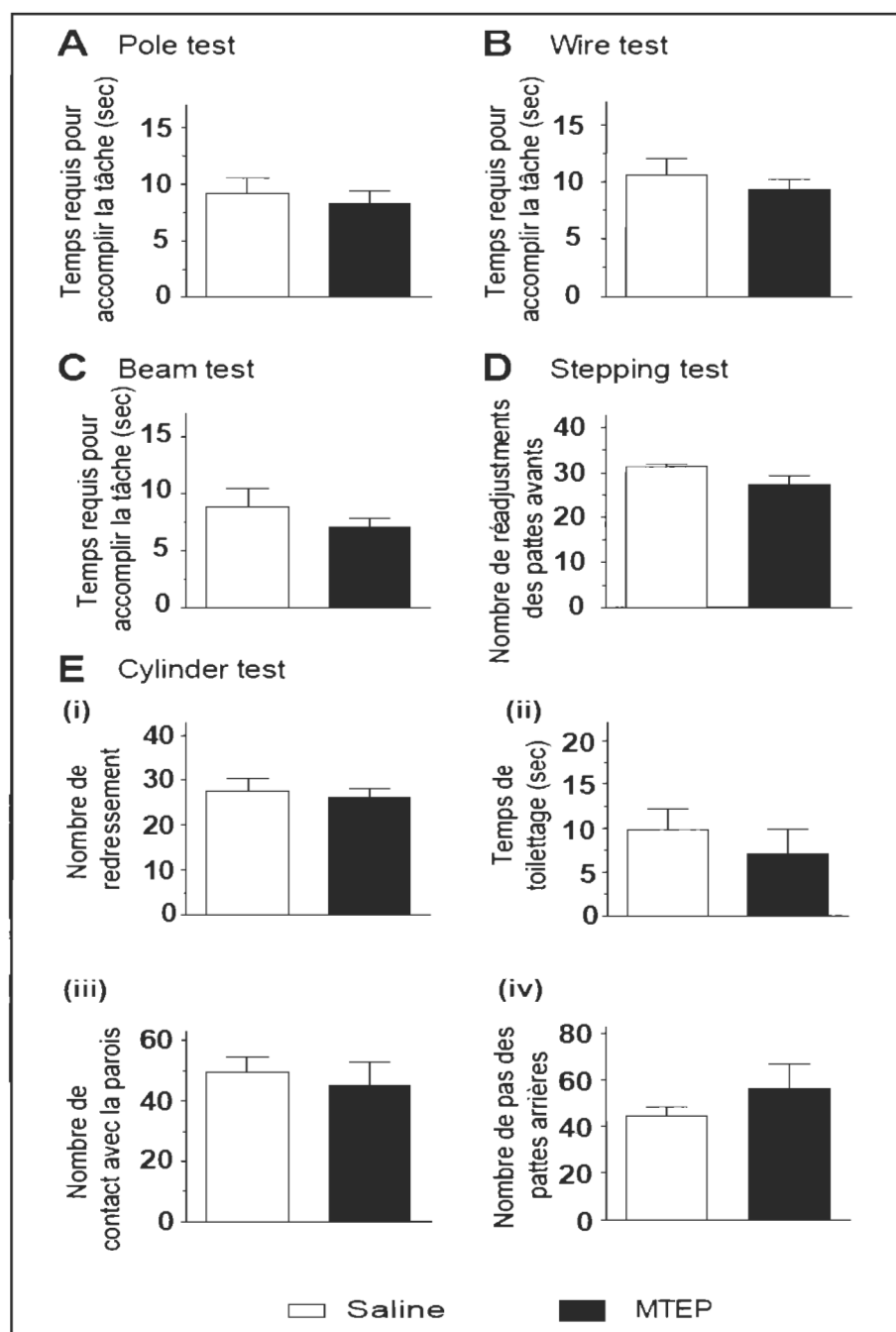


Figure 4.3 Le MTEP n'influence pas les capacités motrices chez la souris. Les tests (A) « Pole test », (B) « Wire test », (C) « Beam test », (D) « Stepping test » et (E) « Cylinder test » ont été effectués pour évaluer les fonctions motrices des souris traitées avec le MTEP (20mg / kg). Les données représentent le temps moyen nécessaire pour effectuer les tests (« Pole », « Wire » & « Beam »), le nombre moyen d'ajustements des pattes (« Stepping test ») et le nombre moyen de levées dans le cylindre, de temps de toilette, d'ajustements sur les parois avec les pattes antérieures et d'ajustements avec les pattes postérieures (« Cylinder ») \pm SEM $n = 5$ à 6 souris / groupe versus les souris traitées avec la Saline.

4.2.2 L'administration de CDPPB n'affecte pas les capacités motrices

La **figure 4.4** présente la différence de performance des tests moteurs entre le groupe de souris traitées avec le modulateur allostérique positif CDPPB et le groupe témoin respectif (DMSO/PEG400). L'analyse des performances ne démontre aucune différence significative entre les deux groupes pour tous les tests moteurs évalués. Ces résultats révèlent que l'augmentation de l'activité du récepteur mGluR₅ n'entraîne pas de déficit moteur (« Pole test », **Figure 4.4A**, test t non apparié, $p > 0.05$; « Wire test », **Figure 4.4B**, test t non apparié, $p > 0.05$; « Beam test », **Figure 4.4C**, test t non apparié, $p > 0.05$; « Stepping test », **Figure 4.4D**, test t non apparié, $p > 0.05$; « Cylinder test », **Figure 4.4 E**, test t non apparié, $p > 0.05$).

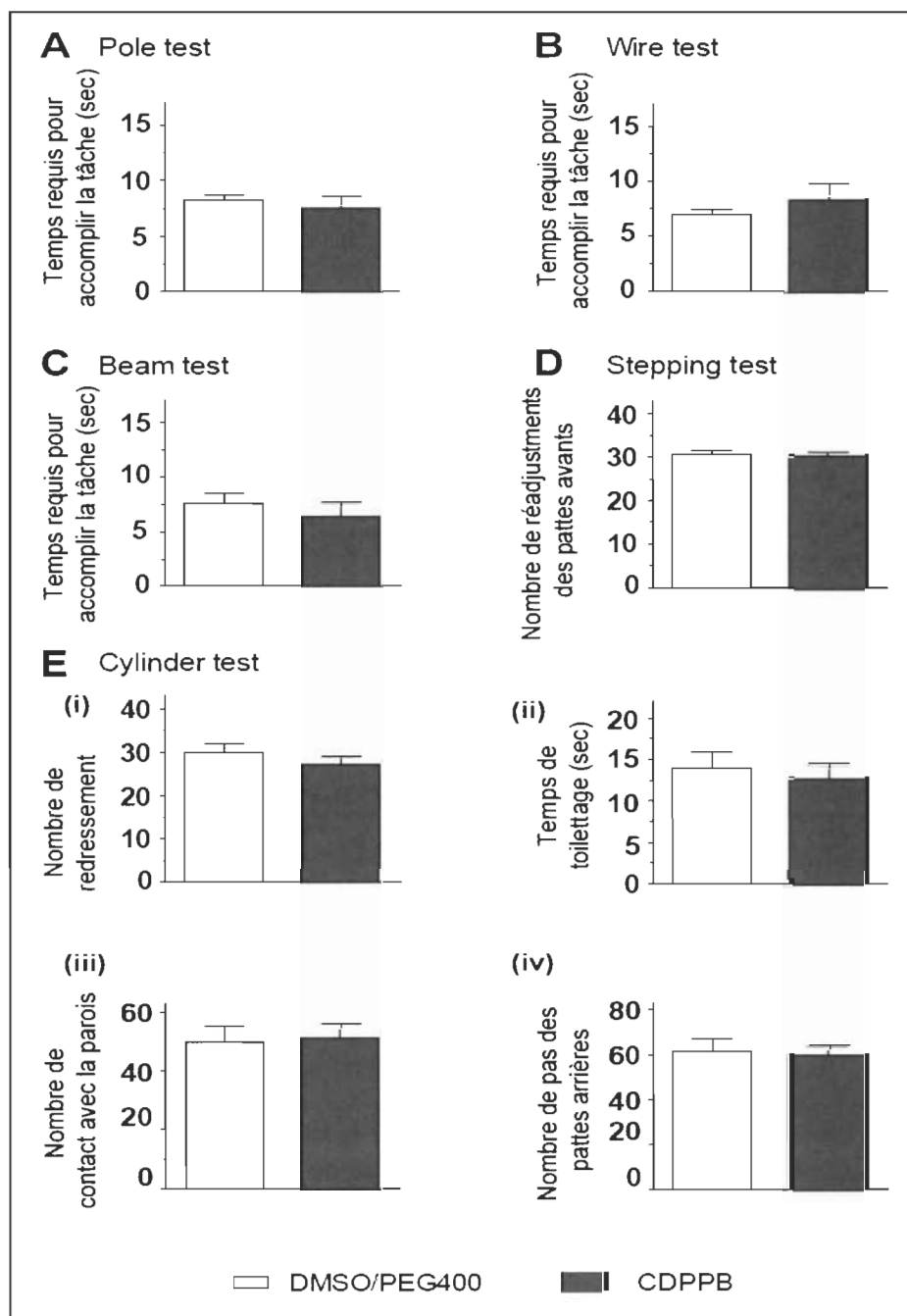


Figure 4.4 Le CDPPB n'affecte pas les capacités motrices chez la souris.

Les tests (A) « Pole test », (B) « Wire test », (C) « Beam test », (D) « Stepping test » et (E) « cylinder test » ont été effectués pour évaluer les fonctions motrices des souris traitées avec le CDPPB (3mg / kg). Les données représentent le temps moyen nécessaire pour effectuer les tests (« Pole », « Wire » & « Beam »), le nombre moyen d'ajustements des pattes (« Stepping ») et le nombre moyen de levées dans le cylindre, de temps de toilette, d'ajustements sur les parois avec les pattes antérieures et d'ajustements avec les pattes postérieures (« Cylinder ») \pm SEM n = 5 à 6 souris / groupe versus les souris traitées avec du DMSO/PEG400.

4.2.3 L'administration de MTEP n'influence pas les capacités d'apprentissage d'une tâche motrice

Suite aux résultats obtenus dans l'évaluation des habiletés motrices, il est possible de conclure que la modulation de mGluR₅ n'affecte pas l'exécution d'une tâche motrice déjà apprise. Toutefois, qu'en est-il de la capacité de mémorisation d'une nouvelle tâche motrice? À l'aide du test moteur du Rotarod en accélération, il a été possible d'évaluer l'impact de la modulation du récepteur mGluR₅ sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation d'une tâche motrice complexe. Les souris devaient donc accomplir quatre séances d'entraînement du jour 1 au jour 4 (**Figure 3.1B**).

La **figure 4.5** présente les performances sur Rotarod du groupe traité avec le NAM MTEP et du groupe contrôle (Saline). La **figure 4.5A** permet de visualiser qualitativement que l'injection de MTEP n'affecte pas les capacités d'apprentissage lorsque comparé avec les souris contrôles, qui elles suivent une courbe d'apprentissage standard sur Rotarod (Luft and Buitrago 2005, Bureau, Carrier et al. 2010). Ensuite, la **figure 4.5B** permet de comparer avec des tests statistiques les différences entre la moyenne des deux premiers essais et des deux derniers essais pour chaque groupe et ainsi déterminer s'il y a un écart de performance entre ceux-ci. Les résultats démontrent que le traitement avec le MTEP n'affecte pas les performances autant aux premiers qu'aux derniers essais. En effet, pour les premiers essais, les tests statistiques ne démontrent aucun effet du traitement sur le temps de maintien avec la chute ($F_{(3,79)} = 0.7988$, $P > 0.05$), une différence statistique de performance entre les jours d'entraînement ($F_{(3,79)} = 48.81$, $P < 0.0001$), et aucune différence entre le nombre de jours d'entraînement et le traitement ($F_{(1,79)} = 0.4501$, $P > 0.05$). Pour les derniers essais, les tests statistiques ne

démontrent aucun effet du traitement sur le temps de maintien avec la chute ($F_{(3,79)} = 2.235$, $P > 0.05$), une différence statistique de performance entre les jours d'entraînement ($F_{(3,79)} = 37.83$, $P < 0.0001$), et aucune différence entre le nombre de jours d'entraînement et le traitement ($F_{(1,79)} = 0.5086$, $P > 0.05$).

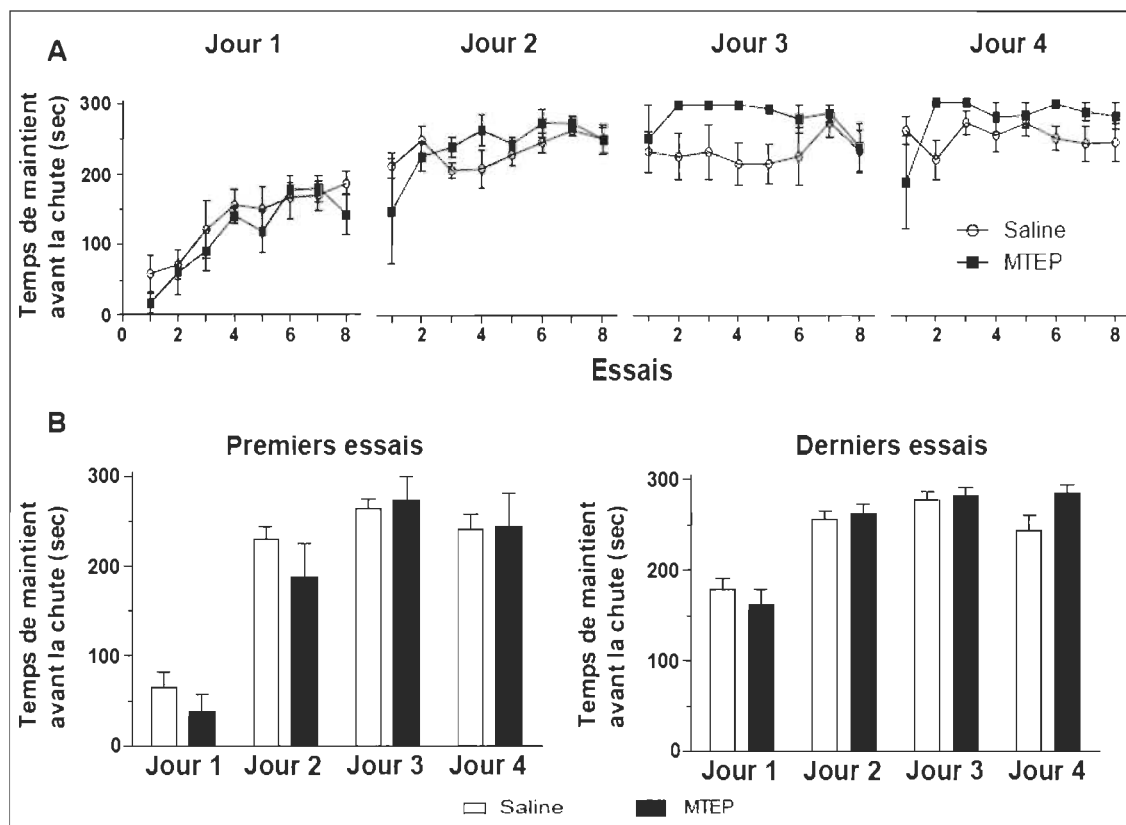


Figure 4.5 La modulation allostérique négative du récepteur mGluR₅ n'affecte pas l'apprentissage moteur.

(A) Le temps passé sur le cylindre du Rotarod a été mesuré pour chaque essai (1 à 8) pour les 4 jours d'entraînement. Les souris ont été traitées 5 minutes avant chaque entraînement avec le MTEP à une dose de 20mg/kg et ont été comparées aux souris traitées avec la saline. Les données représentent la moyenne du temps passé (en seconde) sur le cylindre à chaque essai pour chaque jour d'entraînement \pm S.E.M. $n = 5$ à 6 souris / groupe. (B) Les moyennes des deux premiers et des deux derniers essais de chaque jour d'entraînement ont été calculées. Les valeurs représentent le temps moyen passé sur le cylindre du Rotarod (en secondes) \pm S.E.M. $n = 5$ à 6 souris / groupe.

4.2.4 L'injection de CDPPB ralentit l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice

La **figure 4.6** présente les performances sur Rotarod du groupe traité avec le PAM CDPPB et de son groupe contrôle DMSO/PEG400. La **figure 4.6A** permet de visualiser qualitativement l'effet de l'injection de CDPPB sur les capacités d'apprentissage. Lorsque comparé avec les souris contrôles, qui elles suivent une courbe d'apprentissage standard sur Rotarod (Luft and Buitrago 2005, Bureau, Carrier et al. 2010), on peut remarquer dès la première journée (vers les derniers essais) que le traitement de CDPPB semble ralentir l'amélioration normal des performances sur Rotarod. Ce déficit est maintenu au fil des jours jusqu'à atteindre un même niveau de performance que le groupe contrôle au jour 4. Comme pour les groupes MTEP et Saline, afin de confirmer ces différences à l'aide de tests statistiques, les moyennes des deux premiers essais et des deux derniers essais ont été calculées pour chaque groupe. Pour les premiers essais, les tests statistiques ne démontre aucune effet du traitement sur le temps de maintien avant la chute ($F_{(3,87)} = 0.5317$, $P > 0.05$), une différence statistique de performance entre les jours d'entraînement ($F_{(3,87)} = 27.61$, $P < 0.0001$), et une différence entre le nombre de jours d'entraînement et le traitement ($F_{(1,87)} = 6.601$, $P < 0.05$). Pour les derniers essais, les tests statistiques démontrent un effet du traitement sur le temps de maintien avec la chute ($F_{(3,87)} = 4.741$, $P < 0.01$), une différence statistique de performance entre les jours d'entraînement ($F_{(3,87)} = 11.45$, $P < 0.0001$), et aucune différence entre le nombre de jours d'entraînement et le traitement ($F_{(1,87)} = 10.25$, $P < 0.01$).

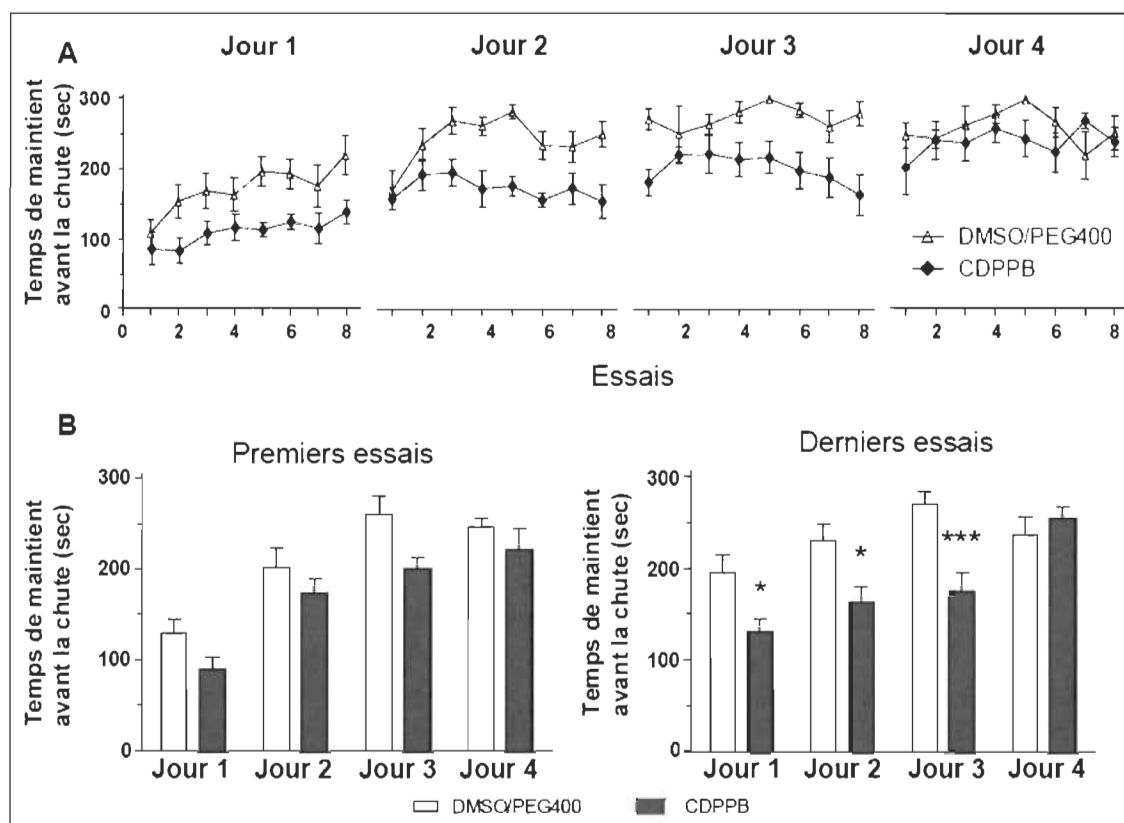


Figure 4.6 La modulation allostérique positive du récepteur mGluRs ralentit l'apprentissage moteur.

(A) Le temps passé sur le cylindre du Rotarod a été mesuré pour chaque essai (1 à 8) pour les 4 jours d'entraînement. Les souris ont été traitées 20 minutes avant chaque entraînement avec le CDPPB à une dose de 3mg/kg et ont été comparées aux souris traitées avec le DMSO/PEG400. Les données représentent la moyenne du temps passé (en seconde) sur le cylindre à chaque essai pour chaque jour d'entraînement \pm S.E.M. $n = 5$ à 6 souris / groupe. (B) Les moyennes des deux premiers et des deux derniers essais de chaque jour d'entraînement ont été calculées. Les valeurs représentent le temps moyen passé sur le cylindre du Rotarod (en secondes) \pm S.E.M. $n = 5$ à 6 souris / groupe. * $p < 0.05$ & *** $p < 0.001$ versus les souris traitées avec du DMSO:PEG400.

CHAPITRE V

DISCUSSION

Mon hypothèse de recherche suggère que la modulation du récepteur mGluR₅ influencerait les comportements générés par le système limbique et le système moteur en raison de sa forte expression dans plusieurs des structures cérébrales qui forment ces deux systèmes de communication. Pour réaliser ce projet, j'ai utilisé le modulateur allostérique négatif MTEP et le modulateur allostérique positif CDPPB afin de moduler l'activité du récepteur. Suite à l'administration de ces agents pharmacologiques, les souris ont été soumises à plusieurs tests comportementaux évaluant leurs comportements anxieux et moteurs. Les résultats seront discutés dans ce présent chapitre.

5.1 Confirmation de l'effet anxiolytique du MTEP

Le MTEP, un NAM du récepteur mGluR₅, est reconnu pour diminuer les comportements anxieux chez les rongeurs et les primates. Afin de reproduire l'effet anxiolytique de cette molécule et du fait même valider mon modèle animal, j'ai injecté les souris, avec une dose de 20mg/kg, 5 minutes avant de les soumettre à deux tests anxiogènes (**figure 3.1A**). Mes résultats illustrent que les souris traitées avec le MTEP démontrent moins de comportements anxieux, lorsque comparées avec les souris contrôles (**figure 4.1**). Ce type de résultats avaient été fréquemment observés par plusieurs autres chercheurs ayant utilisé le « Elevated plus maze », l'un des tests

comportementaux les plus précis pour ce genre d'analyse (Pellow, Chopin et al. 1985). Dans l'optique de confirmer l'effet anxiolytique du MTEP avec un autre test (moins bien connu mais tout aussi bon), les souris ont été soumises au test « Light/Dark transition » (Shimada, Matsumoto et al. 1995). Le fait que ce deuxième test comportemental ait aussi démontré l'effet anxiolytique du MTEP me permet de valider avec assurance mon modèle expérimental. De façon générale, les comportements moins craintifs, concordant avec les effets antérieurement observés avec le MTEP, confirment l'action anxiolytique du MTEP.

5.2 Investigation de l'impact de la modulation positive du récepteur mGluR₅ par le CDPPB

Une des meilleures façons de comprendre les fonctions d'une protéine ou d'un récepteur c'est de bloquer son action normale. C'est probablement ce qui a poussé autant d'études à utiliser des antagonistes et des NAM dans une panoplie de contextes pathologiques. Cependant, l'impact de l'augmentation de l'activité par des agonistes ou des PAM reste sous étudié dans plusieurs domaines. Pourtant, connaître les impacts d'une régulation positive est d'une importance cruciale et permet de prévenir l'apparition de complications lors d'un traitement avec des agonistes par exemple. Dans ce contexte, je pense notamment aux LID, qui apparaissent suite au traitement prolongé avec la Levo-Dopa, un précurseur de l'agoniste endogène dopaminergique (Thanvi, Lo et al. 2007). Bien que ce soit encore à ce jour la meilleure option de traitement contre la maladie de Parkinson, une étude plus approfondie des impacts de la modulation positive des récepteurs dopaminergiques aurait potentiellement pu prévenir ce genre de complications.

Dans le but d'investiguer l'impact de la modulation positive de l'activité du récepteur mGluR₅ sur les comportements anxieux, une autre cohorte de souris a été soumise aux mêmes tests anxiogéniques, suite à une injection du CDPPB. Mes résultats ont démontré que les souris traitées avec le PAM semblent beaucoup plus craintives que les souris contrôles (DMSO/PEG400). Une étude récente a démontré que le CDPPB cause une augmentation des niveaux d'anxiété chez des souris étant déjà sous l'effet de l'alcool (Lee, Coelho et al. 2018). C'est un résultat intéressant, toutefois, il est connu que l'alcool lie les récepteurs GABAergiques. Comme ceux-ci sont la cible actuelle des anxiolytiques déjà existants, il est difficile d'être certain que l'effet anxiogénique est causé par l'injection de CDPPB spécifiquement, ou s'il s'agit plutôt d'un effet causé par d'alcool. À ma connaissance, je suis le premier à démontrer un effet anxiogénique aussi clair du CDPPB par l'utilisation de tests anxiogènes tels que le « Elevated plus maze » et le « Light/dark transition » chez des souris saines et en santé.

Jusqu'à aujourd'hui, l'augmentation de l'activité des récepteurs du glutamate a principalement été associée à la schizophrénie (Krystal, Karper et al. 1994, Krystal, Bennett et al. 2000). Il a d'abord été mis de l'avant que le dérèglement de l'activité du récepteur NMDA causait l'apparition des symptômes cognitifs reliés à cette maladie (Moghaddam 2004, Lindsley, Shipe et al. 2006). Par la suite, de plus en plus d'études ont établies que les récepteurs NMDA et mGluR₅ s'influençaient mutuellement et que la modulation indirecte des récepteurs NMDA par le changement d'activité des récepteurs mGluR₅ pourrait être une voie intéressante dans le traitement à long terme des symptômes cognitifs de la schizophrénie (Moghaddam 2004, Conn, Lindsley et al. 2009). En effet, la modulation allostérique positive du récepteur mGluR₅ par des PAM (dont le CDPPB)

s'est démontrée efficace comme antipsychotique et dans l'amélioration de la cognition dans les modèles précliniques, et ce, par la modulation indirecte de l'activité des récepteurs NMDA (Liu, Grauer et al. 2008, Stauffer 2011, Clifton, Morisot et al. 2013, Bhardwaj, Ryan et al. 2015).

D'autre part, la sélectivité du CDPPB envers le récepteur mGluR₅ et sa facilité d'utilisation *in vivo* ont mené à son utilisation dans d'autres contextes. Certaines études ont démontré que l'administration de CDPPB avait des effets neuro-protecteurs dans la maladie de Huntington (Doria, de Souza et al. 2015, Batista, Doria et al. 2016). De plus, il a été démontré dans les 5 dernières années que le CDPPB pouvait accélérer l'apprentissage dissociatif. En effet, dans plusieurs tests comportementaux, il est possible de faire en sorte que les souris associes un de leur comportement (boire/manger, peser sur un levier, etc.) à une récompense (alcool, cocaïne, etc.) ou une conséquence (choc électrique, bruit agressant, etc.). C'est à force de répéter le comportement que leur cerveau pourra associer celui-ci à la récompense/conséquence. Une fois qu'elle est bien établie, il est possible d'éliminer cette association en ne donnant plus la récompense/conséquence suite à l'exécution du même comportement; c'est ce qu'on appelle l'apprentissage dissociatif (« extinction learning ») (Dunsmoor, Niv et al. 2015). De nombreuses études ont démontré que le CDPPB accélérât l'apprentissage dissociatif (Gass, Trantham-Davidson et al. 2014, Sethna and Wang 2014, Ganella, Thangaraju et al. 2016, Perry, Reed et al. 2016, Gass, McGonigal et al. 2017). De façon générale, l'association entre un comportement et une récompense/conséquence est possible grâce à la formation de nouvelles synapses entre différentes régions du système limbique (LTP), alors que la dissociation est possible grâce au retrait de ces synapses préalablement formées (LTD)

(Hugues and Garcia 2007, Kuhn, Hoger et al. 2014). Des études récentes ont mis de l'avant que le récepteur mGluR₅ serait plus associé à la LTD (Mikuni, Uesaka et al. 2013, Wilkerson, Tsai et al. 2014, Wilkerson, Albanesi et al. 2018). Son interaction avec la protéine « Activity-regulated cytoskeleton-associated » (Arc), une protéine hautement importante dans l'induction de la LTD, serait à la base de son mécanisme de plasticité synaptique. Comme le CDPPB augmente l'activité du récepteur mGluR₅ et que celui-ci est important dans la LTD, il est logique que ce PAM permette une élimination synaptique plus rapide et résulte d'une dissociation comportementale plus efficace.

De façon similaire, il est possible de croire qu'un effet semblable pourrait être observé lors des tests anxieux. Lorsqu'on expose les souris à un nouvel environnement (« Elevated Plus Maze » & « Light/Dark Transition »), elles craignent celui-ci en raison des dangers potentiels. À force de découvrir cet environnement, les souris finissent par associer l'environnement à un endroit sans danger et explorent de plus en plus celui-ci (Moser, Trommald et al. 1994, Plath, Ohana et al. 2006). Toutefois, en augmentant l'activité du récepteur mGluR₅ (augmentation de la LTD), on empêcherait le déroulement normal de cette association ce qui maintiendrait des niveaux d'anxiété élevés. Il est évident que plusieurs autres études seront nécessaires pour éclaircir cette hypothèse, toutefois, mes résultats démontrent un effet indésirable néfaste pour les potentiels traitements de la schizophrénie avec le CDPPB.

Il est bien connu qu'une baisse des niveaux de sérotonine est observée chez les patients atteints d'anxiété (Goldberg and Finnerty 1979, Casacalenda and Boulenger 1998, Lanzenberger, Mitterhauser et al. 2007). De plus, des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine sont recommandés pour être en première ligne pour le

traitement de l'anxiété (Bandelow, Reitt et al. 2015). Les récepteurs sérotoninergiques sont fortement exprimés dans les régions du système limbique, notamment au niveau des mêmes neurones que les récepteurs mGluR₅ (Chalmers and Watson 1991, Lesch and Waider 2012). Bien qu'il n'y ait pas d'évidence qu'une interaction directe existe entre le récepteur mGluR₅ et les récepteurs sérotoninergiques, plusieurs études ont démontré des interactions indirectes. Il a été répertorié que l'inhibition du récepteur mGluR₅ par le NAM MPEP causait indirectement une augmentation de la relâche de sérotonine dans la fente synaptique au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal (Stachowicz, Golembiowska et al. 2007, Smolders, Clinckers et al. 2008). Inversement, il serait logique de croire que l'augmentation de l'activité du récepteur mGluR₅ par le CDPPB diminuerait la quantité de sérotonine dans la fente synaptique et mimerait le manque de sérotonine normalement observé chez les patients anxieux. Il serait donc intéressant de quantifier les niveaux de sérotonine suite à l'administration du CDPPB.

Finalement, différents polymorphismes du récepteur mGluR₅ pourraient être en cause dans divers contextes pathologiques tels que les troubles d'attention avec hyperactivité (Elia, Gai et al. 2010, Elia, Glessner et al. 2011, Hinney, Scherag et al. 2011) ou encore dans la sensibilité à l'alcool (Downing, Marks et al. 2010). Toutefois, à ma connaissance, ces différents niveaux d'expression du récepteur mGluR₅ ne sont pas, du moins pour le moment, connus pour être en cause dans la pathogénèse des troubles anxieux.

Il est intéressant et à la fois logique d'observer des répercussions comportementales contraires suite à des traitements pharmacologiques opposés. Ces résultats permettent d'une part de mieux connaître les impacts de la modulation du récepteur mGluR₅, et de

l'autre, d'exposer des potentiels effets indésirables (anxiété) qui pourraient être rencontrés avec un traitement visant ce récepteur.

5.3 La modulation du récepteur mGluR₅ n'affecte pas les capacités motrices

La forte expression du récepteur mGluR₅ dans les structures du système limbique explique en parti pourquoi celui-ci est important dans la régulation des comportements anxieux. Toutefois, parmi les régions exprimant mGluR₅, un autre système neuronal se démarque : le système moteur. J'ai discuté de l'implication du récepteur mGluR₅ dans la régulation des comportements anxieux et fait le pont entre mes résultats et la littérature. Toutefois, il est étonnant que presque aucune étude ne s'est attardée à l'implication de ce récepteur dans la régulation des comportements générés par le système moteur chez des sujets sains.

Bien que le récepteur mGluR₅ soit exprimé dans plusieurs structures qui composent le système moteur (cortex cérébral, striatum, thalamus, etc.), son influence sur les capacités motrices reste inconnue. Afin de faire le point sur son implication dans le contrôle moteur, les capacités motrices ont été évaluées avec 5 différents tests moteurs (**Figure 3.1B**). Mes résultats démontrent qu'aucune fonction motrice (coordination, équilibre, force musculaire, mouvement volontaire et locomotion) n'a été affectée par les traitements pharmacologiques (MTEP & CDPPB). Ces résultats furent étonnants vu la présence répandue du récepteur mGluR₅ dans le système moteur. Si on compare mes résultats avec la littérature, on remarque que quelques études sont en contradiction avec mes résultats, démontrant que la modulation du récepteur mGluR₅ affecte la coordination

et l'équilibre dans différents contextes pathologiques (Schiefer, Sprunken et al. 2004, Byrnes, Stoica et al. 2009, Guimaraes, Carvalho et al. 2015, Lee, Coelho et al. 2018). Par contre, d'autres démontrent des résultats similaires aux nôtres (Tatarczynska, Klodzinska et al. 2001, Montana, Conrardy et al. 2011, Thomas, Bui et al. 2012, Jew, Wu et al. 2013). Vu ces contradictions, le rôle du le récepteur mGluR₅ dans ce type d'habiletés motrices reste ambiguë.

De plus, la précision des études ci-haut mentionnées est quelque peu limitée. Pour l'évaluation des capacités motrices, les chercheurs ont pour la plupart utilisé le Rotarod à vitesse constante comme test comportemental. Il s'agit d'un excellent test moteur permettant d'analyser de façon globale l'apparition d'un potentiel déficit moteur chez les rongeurs, mais il ne permet pas de distinguer des habiletés motrices précises. De mon côté, mes tests permettent une meilleure précision pour l'évaluation de la coordination (« Pole test ») et l'équilibre (« Beam test »). De plus, mes tests moteurs permettent d'évaluer d'autres fonctions motrices. En effet, lors du « Wire test », la coordination est également importante, toutefois, une bonne force musculaire est primordiale pour permettre à la souris de compléter le test. Comme les traitements avec MTEP et CDPBB n'ont pas affecté les performances durant le « Wire test », il est possible de croire que les fonctions motrices périphériques ne sont pas affectées. De tels résultats semblent logiques puisque la force musculaire est en parti assurée par l'acétylcholine (ACh) au niveau de la jonction neuromusculaire (Marieb and Hoehn 2010). Aussi, lors du « Stepping test », la souris est soumise à une position inhabituelle qui l'oblige à chercher une position plus stable avec ces pattes avant. Ce désir de retrouver une position sécurisante oblige la souris à ajuster ces pattes sur le sol. De cette façon, on peut vérifier leur capacité à initier un

mouvement volontaire indépendamment de leur motivation. Selon mes résultats, l'initiation de mouvement volontaire n'est pas affectée par la modulation de mGluR₅. Finalement, le « Cylinder test » a permis d'analyser de façon générale la locomotion des souris. L'absence de changement dans le nombre de pas, de redressement et le temps de toilettage permet de confirmer que les souris gardent leur tendance à explorer leur environnement. À ce sujet, l'impact de la modulation du récepteur mGluR₅ sur la locomotion est également très controversé dans la littérature.

Plusieurs études tendent à démontrer que l'inhibition de mGluR₅ augmente la locomotion chez la souris (Spooren, Gasparini et al. 2000, Zhu, Wilson et al. 2004, Pietraszek, Gravius et al. 2005, Varty, Grilli et al. 2005, Koros, Rosenbrock et al. 2007, Nicolas, Klein et al. 2007, Christoffersen, Simonyi et al. 2008, Jacob, Gravius et al. 2009), alors que d'autres indiquent aucun changement (Tatarczynska, Klodzinska et al. 2001, Henry, Lehmann-Masten et al. 2002, Kinney, Burno et al. 2003, Hodayoun, Stefani et al. 2004, Naie and Manahan-Vaughan 2004, Li, Need et al. 2006, Belozertseva, Kos et al. 2007). Mes résultats s'ajoutent donc à cette diversité de conclusions à ce sujet. Toutefois, je reste le premier à effectuer une batterie de tests évaluant plusieurs fonctions motrices et à préciser que l'augmentation de l'activité de mGluR₅ par le CDPPB n'influence pas la locomotion.

Ces résultats furent surprenants compte tenu du fait que le glutamate représente un neurotransmetteur plus qu'important dans les capacités motrices. En plus d'assurer une bonne communication entre les régions corticales et les ganglions de la base (des noyaux centraux responsables de la fluidité des mouvements), il permet au cerveau d'envoyer les influx nerveux vers le SNP et ainsi permettre le mouvement. Par contre, le

glutamate n'agit pas seul dans ces fonctions nerveuses. Au niveau du SNC, la dopamine, surtout au niveau de la voie nigrostriée (substance noire *pars compacta* → striatum), est un acteur plus qu'important dans la réalisation de mouvements fluides et contrôlés (Obeso, Rodriguez-Oroz et al. 2008). Au niveau du SNP, l'ACh est le principal neurotransmetteur excitateur et assure la contraction musculaire au niveau des jonctions neuromusculaires (Marieb and Hoehn 2010). Le fait que ces neurotransmetteurs soient aussi importants dans la régulation des comportements moteurs, pourrait être une hypothèse qui expliquerait pourquoi la modulation de mGluR₅ seul n'est pas suffisante pour altérer les capacités motrices. mGluR₅ serait donc plus accessoire dans ce type de comportement.

Il est également important de noter que le récepteur mGluR₅ n'est pas le seul récepteur métabotrope faisant parti du groupe 1. Dans cette sous-famille de récepteurs se trouve également le récepteur mGluR₁ qui présente beaucoup d'homologies avec mGluR₅ et qui agit également par la même protéine G (G_q). Bien que mGluR₁ soit beaucoup moins exprimé dans le striatum, le thalamus et le cortex, sa ressemblance structurale avec mGluR₅ pourrait être à la base d'un effet compensatoire et expliquer en partie pourquoi la modulation de mGluR₅ n'influence pas les comportements moteurs. Dans cette optique, ce possible mécanisme compensatoire devrait agir également dans les comportements anxieux, pourtant la modulation de mGluR₅ influence significativement ce type de comportement. Cela mène à se demander si mGluR₁ compenserait seulement certains types de comportements en fonction de son expression dans le cerveau? En effet, des études ont montrées que le récepteur mGluR₁ est faiblement exprimé dans le système limbique, mais serait présent en grande quantité dans le cervelet, une structure cérébrale

responsable des fonctions proprioceptives du mouvement (Sebastianutto and Cenci 2018). La proprioception permet l'exécution logique et calculé des mouvements en fonction de l'emplacement de notre corps dans l'espace par rapport aux autres objets. Ces fonctions primordiales, qui permettent le mouvement sécuritaire et optimal, comprennent entre autre la coordination ainsi que l'équilibre. Puisque le récepteur mGluR₁ est important dans ces fonctions motrices, il assure peut-être davantage le contrôle de celles-ci en comparaison avec mGluR₅. Certaines études ont justement démontré un déficit moteur lors de l'inhibition du récepteur mGluR₁ (Ichise, Kano et al. 2000, Tatarczynska, Klodzinska et al. 2001, Coesmans, Smitt et al. 2003, Nakao, Nakao et al. 2007, Hodgson, Hyde et al. 2011, Hartmann, Karl et al. 2014). Il paraît donc logique de croire que le récepteur mGluR₅ est accessoire dans le contrôle moteur, mais que le récepteur mGluR₁ serait, quant à lui, plus important dans ce genre de comportement. Évidemment plusieurs études sont encore requises pour confirmer cette hypothèse.

De façon générale, ces tests permettent l'évaluation de différentes capacités motrices, toutefois, il est aussi possible d'observer des comportements reliés à la dépression. Entre autre, lors du « Wire test », des souris dépressives auraient tendances à se laisser tomber et ne pas compléter la tâche. Aussi, lors du « Cylinder test », une souris présentant des symptômes reliés à la dépression aurait tendance à perdre de sa motivation à explorer l'environnement, ce qui se traduirait d'une diminution de la locomotion et de son activité générale. Le fait que les traitements n'aient pas engendré de différence dans ces comportements pourrait signifier que la modulation du récepteur mGluR₅ n'influence pas les comportements dépressifs. Il serait encore une fois primordial de procéder à d'autres tests comportementaux afin de confirmer cette hypothèse.

Il est également intéressant de faire le parallèle entre mes résultats moteurs et anxieux. Le fait que les traitements pharmacologiques n'agissent pas sur les capacités motrices permet de s'assurer que les résultats observés dans les comportements anxieux ne sont pas dû à des quelconques troubles reliés à la motricité. Cette conclusion permet de valider mes résultats ainsi que d'augmenter leur crédibilité. Aussi, l'absence de manifestation comportementale lors des tests moteurs, suite à l'injection du MTEP ou du CDPPB, aurait pu être causée par l'utilisation de doses trop faibles. Toutefois, si on compare les doses qui ont été choisies et celles utilisées dans la littérature (MTEP : 20mg/kg; CDPPB : 3mg/kg), celles-ci sont réputées pour induire des changements autant au niveau comportemental que cellulaire (Riaza Bermudo-Soriano, Perez-Rodriguez et al. 2012). De plus, mes propres résultats démontrent que ces doses induisent des changements comportementaux au niveau de l'anxiété.

Il paraît clair que plusieurs autres études seront essentielles afin de comprendre à 100% le rôle du récepteur mGluR₅ dans le contrôle moteur. Mes résultats mettent toutefois de l'avant que le récepteur mGluR₅ jouerait un rôle secondaire dans l'exécution et les habiletés motrices.

5.4 Investigation de l'impact de la modulation du récepteur mGluR₅ sur l'apprentissage et la mémorisation motrice.

Nos résultats, au niveau de la motricité, démontrent que la modulation du récepteur mGluR₅ n'affecte pas les capacités motrices et n'influence pas l'exécution d'une tâche motrice déjà apprise. Toutefois, qu'en est-il d'une tâche qui n'est pas encore apprise et mémorisée? C'est à cette question que j'ai tenté de répondre grâce au test du Rotarod en accélération (**Figure 3.1B**). Ce dernier permet de distinguer l'impact de la modulation du récepteur mGluR₅ sur un mécanisme connexe à l'exécution motrice : l'apprentissage et la mémorisation d'une tâche motrice. Nos résultats démontrent que l'inhibition de mGluR₅ par le MTEP n'affecte pas ce mécanisme de mémorisation. La **figure 4.5A** permet d'apprécier de manière qualitative l'évolution des performances des souris traitées avec le MTEP (en comparaison avec les souris Salines) au fil des essais et des jours. On remarque que la courbe d'apprentissage des souris traitées suit la même tendance que les souris contrôles, qui elles suivent une courbe d'apprentissage standard sur Rotarod en accélération (Luft and Buitrago 2005, Bureau, Carrier et al. 2010). Ce type de courbe permet de visualiser rapidement si un écart se creuse entre les performances des différents groupes; toutefois, afin de quantifier et comparer par des tests statistiques ces performances, j'ai calculé la moyenne des deux premiers essais ainsi que des deux derniers essais pour chaque groupe. La moyenne des premiers essais de la première journée permet en premier lieu de déterminer si les groupes de souris ont des capacités motrices relativement équivalentes. De plus, la moyenne des premiers essais des autres jours (2 à 4) nous informent sur le déroulement de la phase de consolidation. En effet, comme cette phase d'apprentissage survient entre les sessions d'entraînement, notamment

durant la nuit, la comparaison des premiers essais permet de voir si le traitement a affecté cette phase d'apprentissage et si les souris ont maintenue et bien enregistrées la tâche exécutée durant la session antérieure. Pour ce qui est des moyennes des deux derniers essais, elles permettent d'informer sur le déroulement de l'apprentissage moteur durant les phases rapides (jour 1) et lentes (jours 2 à 4) d'apprentissage, soit pendant les sessions d'entraînement. Si le traitement affecte les capacités immédiates de la souris à mémoriser la tâche motrice, on observera une diminution des performances aux derniers essais. Dans la **figure 4.5B**, on remarque que le traitement avec MTEP n'a pas affecté les phases de consolidation (premiers essais) ainsi que les phases rapides et lentes d'apprentissage (derniers essais).

Il est intéressant de constater que le blocage de ce récepteur ne semble pas affecter l'apprentissage moteur alors que de nombreuses études ont montré que d'autres types de mémoires avaient été altérés par l'inhibition pharmacologique et génétique du récepteur mGluR₅. De façon générale, l'hippocampe est le centre de la mémoire de notre cerveau et permet de mémoriser une panoplie d'informations. Toutefois, en fonction du type de mémorisation, l'hippocampe reçoit des afférences neuronales provenant de différentes structures de notre cerveau. Par exemple, lorsqu'on se rappelle un événement quelconque et que celui-ci nous évoque une émotion, c'est en particulier grâce aux communications entre l'amygdale et l'hippocampe (système limbique), alors que lorsqu'on mémorise une séquence motrice c'est davantage les afférences provenant du striatum et du noyau accumbens qui permettent à l'hippocampe d'enregistrer correctement. De ce fait, peut-être que l'inhibition du récepteur mGluR₅ aurait des impacts plus importants dans certains

type de mémorisation comme la mémoire spatiale ou associative; alors que dans la mémorisation motrice, son inhibition serait sans impact visible.

Je me dois de mentionner un résultat particulier concernant l'apprentissage moteur sous le traitement du MTEP. Au jour 3 (**Figure 4.5A**), on peut remarquer que la courbe de performance des souris traitées avec le MTEP atteint le maximum permis par le test pendant plusieurs essais alors que le groupe de souris contrôles performe à un niveau inférieur. Les tests statistiques qui ont été utilisés ne discernent pas les différences de performance pour tous les essais. De trop nombreux facteurs peuvent influencer les performances des souris à chaque essai, c'est pourquoi calculer statistiquement les écarts de performance entre chacun des essais ne donnerait pas beaucoup d'information. Toutefois, il serait intéressant de retirer le maximum de 5 minutes imposé durant le test du Rotarod en accélération et de comparer les capacités d'apprentissage des souris traitées avec le MTEP et des souris contrôles, en absence de limite. Peut-être que le traitement démontrerait une augmentation des capacités d'apprentissage moteur suite au traitement avec le MTEP? D'autres études sont nécessaires, mais c'est une hypothèse forte intéressante.

La dernière partie de mon projet visait à évaluer l'influence de l'augmentation de l'activité du récepteur mGluR₅ dans l'apprentissage et la mémorisation motrice. Les résultats démontrent que le traitement au CDPPB ralentit l'apprentissage du Rotarod en accélération. En effet, comme il est possible de voir à la **figure 4.6A**, les souris traitées avec le CDPPB démontrent un déficit dans l'amélioration de leurs performances au fil des jours. Les tests statistiques subséquents le confirment. La comparaison des moyennes des deux premiers essais indique aucune différence significative lorsque comparé avec

les souris contrôles. Toutefois, lors de l'analyse des moyennes des derniers essais, on remarque que dès la première journée, les souris ayant reçu le traitement termine la session d'apprentissage à des niveaux inférieurs au groupe témoin. Ce problème d'apprentissage se répète aux jours 2 et 3 de manière plus prononcée. Il paraît clair que le traitement avec le CDPPB induit une diminution des capacités d'apprentissage. Il est toutefois important de noter qu'à chaque début de session, les souris rattrapent le retard et recommencent au même niveau que les souris contrôles. Ce type de résultats laisse croire que malgré la difficulté à enregistrer et mémoriser cette nouvelle tâche motrice lors de son exécution, la phase de consolidation en serait intacte et permettrait aux souris de bien encoder la séquence motrice entre les sessions d'entraînement.

Certaines études ont démontré que l'injection de CDPPB affectait la phase de consolidation lors de certains types de mémorisation (Uslaner, Parmentier-Batteur et al. 2009, Cleva, Hicks et al. 2011). Toutefois, la procédure expérimentale ne permet pas de conclure sur l'effet de nos traitements pour la consolidation puisque les molécules utilisées sont rapidement éliminées de l'organisme (moins d'une heure) (Anderson, Bradbury et al. 2003, Lindsley, Wisnoski et al. 2004). De ce fait, lors de la phase de consolidation entre les sessions d'entraînement, les récepteurs mGluR₅ fonctionneraient normalement et permettraient donc une bonne consolidation. Puisqu'on observe presque aucune amélioration lors des phases rapides et lentes d'apprentissage, il est logique de croire que la consolidation à elle seule serait responsable de l'amélioration de leur performance à travers les jours et permettrait au souris traitées d'atteindre une même saturation de performance en fin des jours que les souris contrôles (**Figure 4.6A**). Il serait

donc fort intéressant de moduler l'activité du récepteur mGluR₅ de façon chronique afin de savoir si l'activité de celui-ci est importante lors de la phase de consolidation.

Il est impossible d'exclure que l'effet anxiogénique du CDPPB pourrait avoir une influence sur le comportement des souris lors des entraînements sur Rotarod. Cette interaction comportementale serait donc soupçonnée de donner l'illusion d'un trouble de l'apprentissage, alors que les souris seraient simplement victimes d'anxiété. Toutefois, certains de nos résultats portent à croire le contraire. Premièrement, le fait que le CDPPB n'ait pas induit de changement durant l'évaluation des tests moteurs laisse croire que l'anxiété causée par son injection n'a pas causé de ralentissement des performances ou des troubles moteurs (**Figure 4.3 & 4.4**). Aussi, bien que le MTEP induise une diminution des comportements anxieux, celui-ci n'a eu aucun impact sur l'entraînement sur Rotarod, suggérant que les comportements liés à l'anxiété ne sont pas affectés durant ce test. De plus, lors du premier essai de la première session d'entraînement sur Rotarod, les souris traitées avec le CDPPB ont eu une performance équivalente aux souris contrôles, démontrant aucun comportement anxieux à ce niveau (**Figure 4.6A**). Finalement, le facteur le plus convaincant est que les souris traitées avec le CDPPB finissent par atteindre le même niveau de performance que les souris contrôles (**Figure 4.6A**). Si l'anxiété était la cause du ralentissement de l'amélioration des performances, logiquement l'anxiété des souris perdurerait au fil des jours et on n'y verrait pas nécessairement d'amélioration. Dans l'ensemble, les résultats démontrent que mes tests d'évaluation motrice et d'apprentissage ne sont pas affectés par les comportements liés à l'anxiété.

Il a semblé curieux que la modulation positive du récepteur mGluR₅ induise un ralentissement de l'apprentissage moteur alors que la modulation négative n'ai aucun effet significatif. Il est bien documenté que le récepteur mGluR₅ est important dans les mécanismes qui régulent la plasticité synaptique, donc son inhibition aurait logiquement du affecter les capacités d'apprentissage. Comme je l'ai mentionné précédemment, mGluR₅ serait plus important dans l'élimination des synapses (LTD). L'augmentation de son activité par le CDPPB causerait donc une augmentation de la LTD, diminuant ainsi le nombre de synapses entre deux régions cérébrales et causant du fait même un problème de communication. Il a été démontré que ce mécanisme mGluR₅/Arc serait important dans l'hippocampe (Jakkamsetti, Tsai et al. 2013). Puisque l'apprentissage moteur nécessite une bonne communication entre le noyau accumbens et l'hippocampe, il est logique que le traitement avec le CDPPB induise un déficit dans l'apprentissage moteur.

À l'inverse, l'inhibition par le MTEP empêcherait l'induction de LTD et ainsi maintiendrait les connexions synaptiques. Toutefois, il est bien connu que l'inhibition du récepteur mGluR₅ cause une diminution massive des fonctions des récepteurs NMDA (Alagarsamy, Marino et al. 1999, Alagarsamy, Rouse et al. 2002). La diminution de l'activité de ce dernier, étant important dans la LTP, diminuerait la LTP et causerait également une diminution des capacités d'apprentissage et de mémorisation. Il apparait évident que de nombreuses études sont encore nécessaires pour comprendre complètement le rôle du récepteur mGluR₅ dans les différents types d'apprentissages ainsi que les mécanismes cellulaires responsables. Toutefois, nos résultats suggèrent une implication du récepteur mGluR₅ dans le bon déroulement de l'apprentissage moteur.

5.5 Conclusions et perspectives

Il existe beaucoup de contradiction dans la littérature concernant les rôles du récepteur mGluR₅ dans différentes fonctions cérébrales. L'objectif de mon étude était de faire le point sur l'impact de la modulation de son activité dans différents contextes comportementaux tels que l'anxiété, la motricité et l'apprentissage moteur. Nos résultats dévoilent un rôle important du récepteur mGluR₅ dans la régulation des comportements anxieux, alors qu'au niveau des comportements moteurs, celui-ci semble être davantage important dans l'apprentissage d'une tâche motrice plutôt que dans l'exécution de celle-ci. Parmi les régions qui expriment le récepteur mGluR₅, si on compare celles qui sont importantes dans la régulation des comportements anxieux et de l'apprentissage moteur, on remarque que certaines de ces structures sont communes. Il s'agit du noyau accumbens et de l'hippocampe. Il devient intéressant de se demander si le récepteur mGluR₅ n'aurait pas un rôle plus important dans ces deux structures du SNC.

Toutes ces nouvelles questions ont mené au développement de nouvelles perspectives de recherche. Les prochaines étapes de mon projet seraient en premier lieu de mettre en relation les changements de comportements observés avec des marqueurs biochimiques reliés à la signalisation du récepteur mGluR₅, tels que homer1a ou Arc. La quantification de ces biomarqueurs se ferait notamment dans l'hippocampe et le noyau accumbens, en raison de leur importance dans les comportements altérés. Il serait également intéressant de moduler par micro-injection l'activité du récepteur mGluR₅ directement dans ces deux structures afin d'analyser les impacts sur les mêmes comportements anxieux et moteurs. Cela permettrait de savoir si le récepteur mGluR₅ est

particulièrement important dans ces deux structures. Finalement, il serait intéressant d'analyser l'impact d'une telle modulation dans d'autres types de comportements, comme la phase de consolidation de l'apprentissage ou encore d'autres types de mémoire.

Les résultats de mon étude permettent assurément de mieux comprendre le rôle du récepteur mGluR₅ dans les comportements anxieux et moteurs. En plus d'avoir reproduit l'effet anxiolytique bien documenté du MTEP, j'ai démontré que le modulateur positif CDPPB, à l'inverse, augmente les comportements anxieux. J'ai donc mis de l'avant l'hypothèse que l'augmentation de l'activité du récepteur mGluR₅ pourrait être liée à la pathogénèse de l'anxiété. De plus, je suis le premier à démontrer que l'augmentation de l'activité du récepteur mGluR₅ altère les capacités d'apprentissage et de mémorisation d'une tâche motrice telle que le Rotarod. Il est évident que plusieurs autres études sont nécessaires afin de comprendre complètement par quels mécanismes le récepteur mGluR₅ régule ces comportements et comment sa modulation pourrait être bénéfique comme cible thérapeutique. En terminant, bien que mes travaux soient très fondamentaux, ils permettent d'émettre l'hypothèse que le récepteur mGluR₅ serait un nouvel acteur important dans l'apprentissage et la mémorisation motrice.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alagarsamy, S., M. J. Marino, S. T. Rouse, R. W. t. Gereau, S. F. Heinemann and P. J. Conn (1999). "Activation of NMDA receptors reverses desensitization of mGluR5 in native and recombinant systems." Nat Neurosci **2**(3): 234-240.
- Alagarsamy, S., S. T. Rouse, C. Junge, G. W. Hubert, D. Gutman, Y. Smith and P. J. Conn (2002). "NMDA-induced phosphorylation and regulation of mGluR5." Pharmacol Biochem Behav **73**(2): 299-306.
- Alasmari, F., S. Goodwani, R. E. McCullumsmith and Y. Sari (2018). "Role of glutamatergic system and mesocorticolimbic circuits in alcohol dependence." Prog Neurobiol.
- Alexander, G. E., M. R. DeLong and P. L. Strick (1986). "Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex." Annu Rev Neurosci **9**: 357-381.
- Almeida-Santos, A. F., F. A. Moreira, F. S. Guimaraes and D. C. Aguiar (2017). "2-Arachidonoylglycerol endocannabinoid signaling coupled to metabotropic glutamate receptor type-5 modulates anxiety-like behavior in the rat ventromedial prefrontal cortex." J Psychopharmacol **31**(6): 740-749.
- Anderson, J. J., M. J. Bradbury, D. R. Giracello, D. F. Chapman, G. Holtz, J. Roppe, C. King, N. D. Cosford and M. A. Varney (2003). "In vivo receptor occupancy of mGlu5 receptor antagonists using the novel radioligand [3H]3-methoxy-5-(pyridin-2-ylethynyl)pyridine." Eur J Pharmacol **473**(1): 35-40.
- Arsenault, D., A. Zhu, C. Gong, K. E. Kil, S. Kura, J. K. Choi and A. L. Brownell (2014). "Hypo-anxious phenotype of adolescent offspring prenatally exposed to LPS is associated with reduced mGluR5 expression in hippocampus." Open J Med Psychol **3**(3): 202-211.
- Ballard, T. M., M. L. Woolley, E. Prinssen, J. Huwyler, R. Porter and W. Spooren (2005). "The effect of the mGlu5 receptor antagonist MPEP in rodent tests of anxiety and cognition: a comparison." Psychopharmacology (Berl) **179**(1): 218-229.
- Balschun, D. and W. Wetzel (2002). "Inhibition of mGluR5 blocks hippocampal LTP in vivo and spatial learning in rats." Pharmacol Biochem Behav **73**(2): 375-380.
- Bandelow, B., M. Reitt, C. Rover, S. Michaelis, Y. Gorlich and D. Wedekind (2015). "Efficacy of treatments for anxiety disorders: a meta-analysis." Int Clin Psychopharmacol **30**(4): 183-192.
- Barker, G. R., Z. I. Bashir, M. W. Brown and E. C. Warburton (2006). "A temporally distinct role for group I and group II metabotropic glutamate receptors in object recognition memory." Learn Mem **13**(2): 178-186.
- Bates, B. S., A. L. Rodriguez, A. S. Felts, R. D. Morrison, D. F. Venable, A. L. Blobaum, F. W. Byers, K. P. Lawson, J. S. Daniels, C. M. Niswender, C. K. Jones, P. J. Conn, C. W. Lindsley and K. A. Emmitte (2014). "Discovery of VU0431316: a negative allosteric

modulator of mGlu5 with activity in a mouse model of anxiety." Bioorg Med Chem Lett **24**(15): 3307-3314.

Batista, E. M., J. G. Doria, T. H. Ferreira-Vieira, J. Alves-Silva, S. S. Ferguson, F. A. Moreira and F. M. Ribeiro (2016). "Orchestrated activation of mGluR5 and CB1 promotes neuroprotection." Mol Brain **9**(1): 80.

Belozertseva, I. V., T. Kos, P. Popik, W. Danysz and A. Y. Beshpalov (2007). "Antidepressant-like effects of mGluR1 and mGluR5 antagonists in the rat forced swim and the mouse tail suspension tests." Eur Neuropsychopharmacol **17**(3): 172-179.

Berne, R. M., B. M. Koeppen and B. A. Stanton (2008). Berne & Levy physiology. Philadelphia, Mosby/Elsevier.

Bhardwaj, S. K., R. T. Ryan, T. P. Wong and L. K. Srivastava (2015). "Loss of dysbindin-1, a risk gene for schizophrenia, leads to impaired group 1 metabotropic glutamate receptor function in mice." Front Behav Neurosci **9**: 72.

Bhattacharyya, S. (2016). "Inside story of Group I Metabotropic Glutamate Receptors (mGluRs)." Int J Biochem Cell Biol **77**(Pt B): 205-212.

Brockie, P. J. and A. V. Maricq (2006). "Ionotropic glutamate receptors: genetics, behavior and electrophysiology." WormBook: 1-16.

Brooks, S. P. and S. B. Dunnett (2009). "Tests to assess motor phenotype in mice: a user's guide." Nat Rev Neurosci **10**(7): 519-529.

Brosnan, J. T. and M. E. Brosnan (2013). "Glutamate: a truly functional amino acid." Amino Acids **45**(3): 413-418.

Bureau, G., M. Carrier, M. Lebel and M. Cyr (2010). "Intrastriatal inhibition of extracellular signal-regulated kinases impaired the consolidation phase of motor skill learning." Neurobiol Learn Mem **94**(1): 107-115.

Byrnes, K. R., B. Stoica, A. Riccio, A. Pajooohesh-Ganji, D. J. Loane and A. I. Faden (2009). "Activation of metabotropic glutamate receptor 5 improves recovery after spinal cord injury in rodents." Ann Neurol **66**(1): 63-74.

Campbell, U. C., K. Lalwani, L. Hernandez, G. G. Kinney, P. J. Conn and L. J. Bristow (2004). "The mGluR5 antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) potentiates PCP-induced cognitive deficits in rats." Psychopharmacology (Berl) **175**(3): 310-318.

Casacalenda, N. and J. P. Boulenger (1998). "Pharmacologic treatments effective in both generalized anxiety disorder and major depressive disorder: clinical and theoretical implications." Can J Psychiatry **43**(7): 722-730.

Chalmers, D. T. and S. J. Watson (1991). "Comparative anatomical distribution of 5-HT_{1A} receptor mRNA and 5-HT_{1A} binding in rat brain--a combined in situ hybridisation/in vitro receptor autoradiographic study." Brain Res **561**(1): 51-60.

Christoffersen, G. R., A. Simonyi, T. R. Schachtman, B. Clausen, D. Clement, V. K. Bjerre, L. T. Mark, M. Reinholdt, K. Schmith-Rasmussen and L. V. Zink (2008). "mGlu5

antagonism impairs exploration and memory of spatial and non-spatial stimuli in rats." Behav Brain Res **191**(2): 235-245.

Cleva, R. M., M. P. Hicks, J. T. Gass, K. C. Wischerath, E. T. Plasters, J. J. Widholm and M. F. Olive (2011). "mGluR5 positive allosteric modulation enhances extinction learning following cocaine self-administration." Behav Neurosci **125**(1): 10-19.

Clifton, N. E., N. Morisot, S. Girardon, M. J. Millan and F. Loiseau (2013). "Enhancement of social novelty discrimination by positive allosteric modulators at metabotropic glutamate 5 receptors: adolescent administration prevents adult-onset deficits induced by neonatal treatment with phencyclidine." Psychopharmacology (Berl) **225**(3): 579-594.

Coesmans, M., P. A. Smitt, D. J. Linden, R. Shigemoto, T. Hirano, Y. Yamakawa, A. M. van Alphen, C. Luo, J. N. van der Geest, J. M. Kros, C. A. Gaillard, M. A. Frens and C. I. de Zeeuw (2003). "Mechanisms underlying cerebellar motor deficits due to mGluR1-autoantibodies." Ann Neurol **53**(3): 325-336.

Conn, P. J., G. Battaglia, M. J. Marino and F. Nicoletti (2005). "Metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit." Nat Rev Neurosci **6**(10): 787-798.

Conn, P. J., C. W. Lindsley and C. K. Jones (2009). "Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia." Trends Pharmacol Sci **30**(1): 25-31.

Conn, P. J. and J. P. Pin (1997). "Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors." Annu Rev Pharmacol Toxicol **37**: 205-237.

Connaughton, V. (1995). Glutamate and Glutamate Receptors in the Vertebrate Retina. Webvision: The Organization of the Retina and Visual System. H. Kolb, E. Fernandez and R. Nelson. Salt Lake City (UT).

Cosford, N. D., L. Tehrani, J. Roppe, E. Schweiger, N. D. Smith, J. Anderson, L. Bristow, J. Brodtkin, X. Jiang, I. McDonald, S. Rao, M. Washburn and M. A. Varney (2003). "3-[(2-Methyl-1,3-thiazol-4-yl)ethynyl]-pyridine: a potent and highly selective metabotropic glutamate subtype 5 receptor antagonist with anxiolytic activity." J Med Chem **46**(2): 204-206.

Dekundy, A., F. Mela, M. Hofmann and W. Danysz (2015). "Effects of dopamine uptake inhibitor MRZ-9547 in animal models of Parkinson's disease." J Neural Transm (Vienna) **122**(6): 809-818.

Dingledine, R., K. Borges, D. Bowie and S. F. Traynelis (1999). "The glutamate receptor ion channels." Pharmacol Rev **51**(1): 7-61.

Doria, J. G., J. M. de Souza, J. N. Andrade, H. A. Rodrigues, I. M. Guimaraes, T. G. Carvalho, C. Guatimosim, T. Dobransky and F. M. Ribeiro (2015). "The mGluR5 positive allosteric modulator, CDPBB, ameliorates pathology and phenotypic signs of a mouse model of Huntington's disease." Neurobiol Dis **73**: 163-173.

Doria, J. G., J. M. de Souza, F. R. Silva, I. G. Olmo, T. G. Carvalho, J. Alves-Silva, T. H. Ferreira-Vieira, J. T. Santos, C. Q. S. Xavier, N. C. Silva, E. M. A. Maciel, P. Jeffrey Conn and F. M. Ribeiro (2018). "The mGluR5 positive allosteric modulator VU0409551

improves synaptic plasticity and memory of a mouse model of Huntington's disease." J Neurochem.

Downing, C., M. J. Marks, C. Larson and T. E. Johnson (2010). "The metabotropic glutamate receptor subtype 5 mediates sensitivity to the sedative properties of ethanol." Pharmacogenet Genomics **20**(9): 553-564.

Doyon, J., P. Bellec, R. Amsel, V. Penhune, O. Monchi, J. Carrier, S. Lehericy and H. Benali (2009). "Contributions of the basal ganglia and functionally related brain structures to motor learning." Behav Brain Res **199**(1): 61-75.

Dunsmoor, J. E., Y. Niv, N. Daw and E. A. Phelps (2015). "Rethinking Extinction." Neuron **88**(1): 47-63.

Elia, J., X. Gai, H. M. Xie, J. C. Perin, E. Geiger, J. T. Glessner, M. D'Arcy, R. deBerardinis, E. Frackelton, C. Kim, F. Lantieri, B. M. Muganga, L. Wang, T. Takeda, E. F. Rappaport, S. F. Grant, W. Berrettini, M. Devoto, T. H. Shaikh, H. Hakonarson and P. S. White (2010). "Rare structural variants found in attention-deficit hyperactivity disorder are preferentially associated with neurodevelopmental genes." Mol Psychiatry **15**(6): 637-646.

Elia, J., J. T. Glessner, K. Wang, N. Takahashi, C. J. Shtir, D. Hadley, P. M. Sleiman, H. Zhang, C. E. Kim, R. Robison, G. J. Lyon, J. H. Flory, J. P. Bradfield, M. Imielinski, C. Hou, E. C. Frackelton, R. M. Chiavacci, T. Sakurai, C. Rabin, F. A. Middleton, K. A. Thomas, M. Garriss, F. Mentch, C. M. Freitag, H. C. Steinhausen, A. A. Todorov, A. Reif, A. Rothenberger, B. Franke, E. O. Mick, H. Roeyers, J. Buitelaar, K. P. Lesch, T. Banaschewski, R. P. Ebstein, F. Mulas, R. D. Oades, J. Sergeant, E. Sonuga-Barke, T. J. Renner, M. Romanos, J. Romanos, A. Warnke, S. Walitza, J. Meyer, H. Palmason, C. Seitz, S. K. Loo, S. L. Smalley, J. Biederman, L. Kent, P. Asherson, R. J. Anney, J. W. Gaynor, P. Shaw, M. Devoto, P. S. White, S. F. Grant, J. D. Buxbaum, J. L. Rapoport, N. M. Williams, S. F. Nelson, S. V. Faraone and H. Hakonarson (2011). "Genome-wide copy number variation study associates metabotropic glutamate receptor gene networks with attention deficit hyperactivity disorder." Nat Genet **44**(1): 78-84.

Emmitte, K. A. (2013). "mGlu5 negative allosteric modulators: a patent review (2010-2012)." Expert Opin Ther Pat **23**(4): 393-408.

Emmitte, K. A. (2017). "mGlu5 negative allosteric modulators: a patent review (2013 - 2016)." Expert Opin Ther Pat **27**(6): 691-706.

Fahlke, C., D. Körtzack and J. P. Machtens (2016). "Molecular physiology of EAAT anion channels." Pflugers Arch **468**(3): 491-502.

Felts, A. S., A. L. Rodriguez, A. L. Blobaum, R. D. Morrison, B. S. Bates, A. Thompson Gray, J. M. Rook, M. N. Tantawy, F. W. Byers, S. Chang, D. F. Venable, V. B. Luscombe, G. D. Tamagnan, C. M. Niswender, J. S. Daniels, C. K. Jones, P. J. Conn, C. W. Lindsley and K. A. Emmitte (2017). "Discovery of N-(5-Fluoropyridin-2-yl)-6-methyl-4-(pyrimidin-5-yloxy)picolinamide (VU0424238): A Novel Negative Allosteric Modulator of Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 5 Selected for Clinical Evaluation." J Med Chem **60**(12): 5072-5085.

Felts, A. S., A. L. Rodriguez, R. D. Morrison, D. F. Venable, J. T. Manka, B. S. Bates, A. L. Blobaum, F. W. Byers, J. S. Daniels, C. M. Niswender, C. K. Jones, P. J. Conn, C. W. Lindsley and K. A. Emmitte (2013). "Discovery of VU0409106: A negative allosteric modulator of mGlu5 with activity in a mouse model of anxiety." Bioorg Med Chem Lett **23**(21): 5779-5785.

Ferrigno, A., C. Berardo, L. G. Di Pasqua, V. Siciliano, P. Richelmi and M. Vairetti (2017). "Localization and role of metabotropic glutamate receptors subtype 5 in the gastrointestinal tract." World J Gastroenterol **23**(25): 4500-4507.

Ganella, D. E., P. Thangaraju, A. J. Lawrence and J. H. Kim (2016). "Fear extinction in 17 day old rats is dependent on metabotropic glutamate receptor 5 signaling." Behav Brain Res **298**(Pt A): 32-36.

Gasparini, F., K. Lingenhohl, N. Stoehr, P. J. Flor, M. Heinrich, I. Vranesic, M. Biollaz, H. Allgeier, R. Heckendorn, S. Urwyler, M. A. Varney, E. C. Johnson, S. D. Hess, S. P. Rao, A. I. Sacca, E. M. Santori, G. Velicelebi and R. Kuhn (1999). "2-Methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine (MPEP), a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist." Neuropharmacology **38**(10): 1493-1503.

Gass, J. T., J. T. McGonigal and L. J. Chandler (2017). "Deficits in the extinction of ethanol-seeking behavior following chronic intermittent ethanol exposure are attenuated with positive allosteric modulation of mGlu5." Neuropharmacology **113**(Pt A): 198-205.

Gass, J. T., H. Trantham-Davidson, A. S. Kassab, W. B. Glen, Jr., M. F. Olive and L. J. Chandler (2014). "Enhancement of extinction learning attenuates ethanol-seeking behavior and alters plasticity in the prefrontal cortex." J Neurosci **34**(22): 7562-7574.

Genkova-Papazova, M., B. Petkova, I. Stankova, K. Ossowska and M. Lazarova-Bakarova (2007). "Effects of MPEP on avoidance learning in rats." Methods Find Exp Clin Pharmacol **29**(3): 205-209.

Goldberg, H. L. and R. J. Finnerty (1979). "The comparative efficacy of buspirone and diazepam in the treatment of anxiety." Am J Psychiatry **136**(9): 1184-1187.

Gravius, A., A. Dekundy, J. Nagel, L. More, M. Pietraszek and W. Danysz (2008). "Investigation on tolerance development to subchronic blockade of mGluR5 in models of learning, anxiety, and levodopa-induced dyskinesia in rats." J Neural Transm (Vienna) **115**(12): 1609-1619.

Gravius, A., M. Pietraszek, D. Schafer, W. J. Schmidt and W. Danysz (2005). "Effects of mGlu1 and mGlu5 receptor antagonists on negatively reinforced learning." Behav Pharmacol **16**(2): 113-121.

Gregoire, L., N. Morin, B. Ouattara, F. Gasparini, G. Bilbe, D. Johns, I. Vranesic, S. Sahasranaman, B. Gomez-Mancilla and T. Di Paolo (2011). "The acute antiparkinsonian and antidyskinetic effect of AFQ056, a novel metabotropic glutamate receptor type 5 antagonist, in L-Dopa-treated parkinsonian monkeys." Parkinsonism Relat Disord **17**(4): 270-276.

Guerriero, R. M., C. C. Giza and A. Rotenberg (2015). "Glutamate and GABA imbalance following traumatic brain injury." Curr Neurol Neurosci Rep **15**(5): 27.

Guimaraes, I. M., T. G. Carvalho, S. S. Ferguson, G. S. Pereira and F. M. Ribeiro (2015). "The metabotropic glutamate receptor 5 role on motor behavior involves specific neural substrates." Mol Brain **8**: 24.

Hackett, J. T. and T. Ueda (2015). "Glutamate Release." Neurochem Res **40**(12): 2443-2460.

Hartmann, J., R. M. Karl, R. P. Alexander, H. Adelsberger, M. S. Brill, C. Ruhlmann, A. Ansel, K. Sakimura, Y. Baba, T. Kurosaki, T. Misgeld and A. Konnerth (2014). "STIM1 controls neuronal Ca(2)(+) signaling, mGluR1-dependent synaptic transmission, and cerebellar motor behavior." Neuron **82**(3): 635-644.

Henry, S. A., V. Lehmann-Masten, F. Gasparini, M. A. Geyer and A. Markou (2002). "The mGluR5 antagonist MPEP, but not the mGluR2/3 agonist LY314582, augments PCP effects on prepulse inhibition and locomotor activity." Neuropharmacology **43**(8): 1199-1209.

Herzig, V. and W. J. Schmidt (2004). "Effects of MPEP on locomotion, sensitization and conditioned reward induced by cocaine or morphine." Neuropharmacology **47**(7): 973-984.

Hinney, A., A. Scherag, I. Jarick, O. Albayrak, C. Putter, S. Pechlivanis, M. R. Dauvermann, S. Beck, H. Weber, S. Scherag, T. T. Nguyen, A. L. Volckmar, N. Knoll, S. V. Faraone, B. M. Neale, B. Franke, S. Cichon, P. Hoffmann, M. M. Nothen, S. Schreiber, K. H. Jockel, H. E. Wichmann, C. Freitag, T. Lempp, J. Meyer, S. Gilsbach, B. Herpertz-Dahlmann, J. Sinzig, G. Lehmkuhl, T. J. Renner, A. Warnke, M. Romanos, K. P. Lesch, A. Reif, B. G. Schimmelmann, J. Hebebrand and G. C. A. s. Psychiatric (2011). "Genome-wide association study in German patients with attention deficit/hyperactivity disorder." Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet **156B**(8): 888-897.

Hodgson, R. A., L. A. Hyde, D. H. Guthrie, M. E. Cohen-Williams, P. T. Leach, T. M. Kazdoba, C. J. Bleickardt, S. X. Lu, E. M. Parker and G. B. Varty (2011). "Characterization of the selective mGluR1 antagonist, JNJ16259685, in rodent models of movement and coordination." Pharmacol Biochem Behav **98**(2): 181-187.

Homayoun, H., M. R. Stefani, B. W. Adams, G. D. Tamagan and B. Moghaddam (2004). "Functional Interaction Between NMDA and mGlu5 Receptors: Effects on Working Memory, Instrumental Learning, Motor Behaviors, and Dopamine Release." Neuropsychopharmacology **29**(7): 1259-1269.

Hugues, S. and R. Garcia (2007). "Reorganization of learning-associated prefrontal synaptic plasticity between the recall of recent and remote fear extinction memory." Learn Mem **14**(8): 520-524.

Ichise, T., M. Kano, K. Hashimoto, D. Yanagihara, K. Nakao, R. Shigemoto, M. Katsuki and A. Aiba (2000). "mGluR1 in cerebellar Purkinje cells essential for long-term depression, synapse elimination, and motor coordination." Science **288**(5472): 1832-1835.

Jacob, W., A. Gravius, M. Pietraszek, J. Nagel, I. Belozertseva, E. Shekunova, A. Malyshkin, S. Greco, C. Barberi and W. Danysz (2009). "The anxiolytic and analgesic

properties of fenobam, a potent mGlu5 receptor antagonist, in relation to the impairment of learning." *Neuropharmacology* **57**(2): 97-108.

Jakkamsetti, V., N. P. Tsai, C. Gross, G. Molinaro, K. A. Collins, F. Nicoletti, K. H. Wang, P. Osten, G. J. Bassell, J. R. Gibson and K. M. Huber (2013). "Experience-induced Arc/Arg3.1 primes CA1 pyramidal neurons for metabotropic glutamate receptor-dependent long-term synaptic depression." *Neuron* **80**(1): 72-79.

Jew, C. P., C. S. Wu, H. Sun, J. Zhu, J. Y. Huang, D. Yu, N. J. Justice and H. C. Lu (2013). "mGluR5 ablation in cortical glutamatergic neurons increases novelty-induced locomotion." *PLoS One* **8**(8): e70415.

Julio-Pieper, M., P. J. Flor, T. G. Dinan and J. F. Cryan (2011). "Exciting times beyond the brain: metabotropic glutamate receptors in peripheral and non-neural tissues." *Pharmacol Rev* **63**(1): 35-58.

Karni, A., G. Meyer, C. Rey-Hipolito, P. Jezard, M. M. Adams, R. Turner and L. G. Ungerleider (1998). "The acquisition of skilled motor performance: fast and slow experience-driven changes in primary motor cortex." *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**(3): 861-868.

Kinney, G. G., M. Burno, U. C. Campbell, L. M. Hernandez, D. Rodriguez, L. J. Bristow and P. J. Conn (2003). "Metabotropic glutamate subtype 5 receptors modulate locomotor activity and sensorimotor gating in rodents." *J Pharmacol Exp Ther* **306**(1): 116-123.

Klodzinska, A., E. Tatarczynska, E. Chojnacka-Wojcik, G. Nowak, N. D. Cosford and A. Pilc (2004). "Anxiolytic-like effects of MTEP, a potent and selective mGlu5 receptor agonist does not involve GABA(A) signaling." *Neuropharmacology* **47**(3): 342-350.

Koros, E., H. Rosenbrock, G. Birk, C. Weiss and F. Sams-Dodd (2007). "The selective mGlu5 receptor antagonist MTEP, similar to NMDA receptor antagonists, induces social isolation in rats." *Neuropsychopharmacology* **32**(3): 562-576.

Krystal, J. H., A. Bennett, D. Abi-Saab, A. Belger, L. P. Karper, D. C. D'Souza, D. Lipschitz, A. Abi-Dargham and D. S. Charney (2000). "Dissociation of ketamine effects on rule acquisition and rule implementation: possible relevance to NMDA receptor contributions to executive cognitive functions." *Biol Psychiatry* **47**(2): 137-143.

Krystal, J. H., L. P. Karper, J. P. Seibyl, G. K. Freeman, R. Delaney, J. D. Bremner, G. R. Heninger, M. B. Bowers, Jr. and D. S. Charney (1994). "Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses." *Arch Gen Psychiatry* **51**(3): 199-214.

Krystal, J. H., S. J. Mathew, D. C. D'Souza, A. Garakani, H. Gunduz-Bruce and D. S. Charney (2010). "Potential psychiatric applications of metabotropic glutamate receptor agonists and antagonists." *CNS Drugs* **24**(8): 669-693.

Kuhn, M., N. Hoyer, B. Feige, J. Blechert, C. Normann and C. Nissen (2014). "Fear extinction as a model for synaptic plasticity in major depressive disorder." *PLoS One* **9**(12): e115280.

Kumar, J., H. Hapidin, Y. T. Bee and Z. Ismail (2013). "Effects of the mGluR5 antagonist MPEP on ethanol withdrawal induced anxiety-like syndrome in rats." Behav Brain Funct **9**: 43.

Lanzenberger, R. R., M. Mitterhauser, C. Spindelegger, W. Wadsak, N. Klein, L. K. Mien, A. Holik, T. Attarbaschi, N. Mossaheb, J. Sacher, T. Geiss-Granadia, K. Kletter, S. Kasper and J. Tauscher (2007). "Reduced serotonin-1A receptor binding in social anxiety disorder." Biol Psychiatry **61**(9): 1081-1089.

Lee, K. M., M. A. Coelho, M. A. Class and K. K. Szumlinski (2018). "mGlu5-dependent modulation of anxiety during early withdrawal from binge-drinking in adult and adolescent male mice." Drug Alcohol Depend **184**: 1-11.

Lemay-Clermont, J., C. Robitaille, Y. P. Auberson, G. Bureau and M. Cyr (2011). "Blockade of NMDA receptors 2A subunit in the dorsal striatum impairs the learning of a complex motor skill." Behav Neurosci **125**(5): 714-723.

Lesch, K. P. and J. Waider (2012). "Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders." Neuron **76**(1): 175-191.

Li, X., A. B. Need, M. Baez and J. M. Witkin (2006). "Metabotropic glutamate 5 receptor antagonism is associated with antidepressant-like effects in mice." J Pharmacol Exp Ther **319**(1): 254-259.

Lindsley, C. W., W. D. Shipe, S. E. Wolkenberg, C. R. Theberge, D. L. Williams, Jr., C. Sur and G. G. Kinney (2006). "Progress towards validating the NMDA receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia." Curr Top Med Chem **6**(8): 771-785.

Lindsley, C. W., D. D. Wisnoski, W. H. Leister, A. O'Brien J, W. Lemaire, D. L. Williams, Jr., M. Burno, C. Sur, G. G. Kinney, D. J. Pettibone, P. R. Tiller, S. Smith, M. E. Duggan, G. D. Hartman, P. J. Conn and J. R. Huff (2004). "Discovery of positive allosteric modulators for the metabotropic glutamate receptor subtype 5 from a series of N-(1,3-diphenyl-1H-pyrazol-5-yl)benzamides that potentiate receptor function in vivo." J Med Chem **47**(24): 5825-5828.

Liu, F., S. Grauer, C. Kelley, R. Navarra, R. Graf, G. Zhang, P. J. Atkinson, M. Popiolek, C. Wantuch, X. Khawaja, D. Smith, M. Olsen, E. Kouranova, M. Lai, F. Pruthi, C. Pulicicchio, M. Day, A. Gilbert, M. H. Pausch, N. J. Brandon, C. E. Beyer, T. A. Comery, S. Logue, S. Rosenzweig-Lipson and K. L. Marquis (2008). "ADX47273 [S-(4-fluorophenyl)-{3-[3-(4-fluorophenyl)-[1,2,4]-oxadiazol-5-yl]-piperidin-1-yl}-methanone]: a novel metabotropic glutamate receptor 5-selective positive allosteric modulator with preclinical antipsychotic-like and procognitive activities." J Pharmacol Exp Ther **327**(3): 827-839.

Loane, D. J., B. A. Stoica, F. Tchanchou, A. Kumar, J. P. Barrett, T. Akintola, F. Xue, P. J. Conn and A. I. Faden (2014). "Novel mGluR5 positive allosteric modulator improves functional recovery, attenuates neurodegeneration, and alters microglial polarization after experimental traumatic brain injury." Neurotherapeutics **11**(4): 857-869.

Lu, Y. M., Z. Jia, C. Janus, J. T. Henderson, R. Gerlai, J. M. Wojtowicz and J. C. Roder (1997). "Mice lacking metabotropic glutamate receptor 5 show impaired learning and

reduced CA1 long-term potentiation (LTP) but normal CA3 LTP." *J Neurosci* **17**(13): 5196-5205.

Luft, A. R. and M. M. Buitrago (2005). "Stages of motor skill learning." *Mol Neurobiol* **32**(3): 205-216.

Luong, T. N., H. J. Carlisle, A. Southwell and P. H. Patterson (2011). "Assessment of motor balance and coordination in mice using the balance beam." *J Vis Exp*(49).

Luscher, C. and K. M. Huber (2010). "Group I mGluR-dependent synaptic long-term depression: mechanisms and implications for circuitry and disease." *Neuron* **65**(4): 445-459.

Manahan-Vaughan, D. and K. H. Braunewell (2005). "The metabotropic glutamate receptor, mGluR5, is a key determinant of good and bad spatial learning performance and hippocampal synaptic plasticity." *Cereb Cortex* **15**(11): 1703-1713.

Marambaud, P., U. Dreses-Werringloer and V. Vingtdeux (2009). "Calcium signaling in neurodegeneration." *Mol Neurodegener* **4**: 20.

Marieb, E. N. and K. Hoehn (2010). *Anatomie et physiologie humaines*. Saint-Laurent, Québec, Éditions du Renouveau pédagogique.

McGeehan, A. J., P. H. Janak and M. F. Olive (2004). "Effect of the mGluR5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)pyridine (MPEP) on the acute locomotor stimulant properties of cocaine, D-amphetamine, and the dopamine reuptake inhibitor GBR12909 in mice." *Psychopharmacology (Berl)* **174**(2): 266-273.

McLaughlin, K. A., E. Behar and T. D. Borkovec (2008). "Family history of psychological problems in generalized anxiety disorder." *J Clin Psychol* **64**(7): 905-918.

Mikuni, T., N. Uesaka, H. Okuno, H. Hirai, K. Deisseroth, H. Bito and M. Kano (2013). "Arc/Arg3.1 is a postsynaptic mediator of activity-dependent synapse elimination in the developing cerebellum." *Neuron* **78**(6): 1024-1035.

Moghaddam, B. (2004). "Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia." *Psychopharmacology (Berl)* **174**(1): 39-44.

Molck, C., K. Harpsoe, D. E. Gloriam, J. M. Mathiesen, S. M. Nielsen and H. Brauner-Osborne (2014). "mGluR5: exploration of orthosteric and allosteric ligand binding pockets and their applications to drug discovery." *Neurochem Res* **39**(10): 1862-1875.

Montana, M. C., B. A. Conrardy, L. F. Cavallone, B. J. Kolber, L. K. Rao, S. C. Greco and R. W. t. Gereau (2011). "Metabotropic glutamate receptor 5 antagonism with fenobam: examination of analgesic tolerance and side effect profile in mice." *Anesthesiology* **115**(6): 1239-1250.

Morin, N., L. Gregoire, M. Morissette, S. Desrayaud, B. Gomez-Mancilla, F. Gasparini and T. Di Paolo (2013). "MPEP, an mGlu5 receptor antagonist, reduces the development of L-DOPA-induced motor complications in de novo parkinsonian monkeys: biochemical correlates." *Neuropharmacology* **66**: 355-364.

- Moser, M. B., M. Trommald and P. Andersen (1994). "An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(26): 12673-12675.
- Muto, T., D. Tsuchiya, K. Morikawa and H. Jingami (2007). "Structures of the extracellular regions of the group II/III metabotropic glutamate receptors." Proc Natl Acad Sci U S A **104**(10): 3759-3764.
- Naie, K. and D. Manahan-Vaughan (2004). "Regulation by metabotropic glutamate receptor 5 of LTP in the dentate gyrus of freely moving rats: relevance for learning and memory formation." Cereb Cortex **14**(2): 189-198.
- Nakao, H., K. Nakao, M. Kano and A. Aiba (2007). "Metabotropic glutamate receptor subtype-1 is essential for motor coordination in the adult cerebellum." Neurosci Res **57**(4): 538-543.
- Nickols, H. H., J. P. Yuh, K. J. Gregory, R. D. Morrison, B. S. Bates, S. R. Stauffer, K. A. Emmitte, M. Bubser, W. Peng, M. T. Nedelcovych, A. Thompson, X. Lv, Z. Xiang, J. S. Daniels, C. M. Niswender, C. W. Lindsley, C. K. Jones and P. J. Conn (2016). "VU0477573: Partial Negative Allosteric Modulator of the Subtype 5 Metabotropic Glutamate Receptor with In Vivo Efficacy." J Pharmacol Exp Ther **356**(1): 123-136.
- Nicolas, L. B., S. Klein and E. P. Prinssen (2007). "Defensive-like behaviors induced by ultrasound: further pharmacological characterization in Lister-hooded rats." Psychopharmacology (Berl) **194**(2): 243-252.
- Nicoletti, F., J. Bockaert, G. L. Collingridge, P. J. Conn, F. Ferraguti, D. D. Schoepp, J. T. Wroblewski and J. P. Pin (2011). "Metabotropic glutamate receptors: from the workbench to the bedside." Neuropharmacology **60**(7-8): 1017-1041.
- O'Riordan, K., H. Gerstein, R. Hullinger and C. Burger (2014). "The role of Homer1c in metabotropic glutamate receptor-dependent long-term potentiation." Hippocampus **24**(1): 1-6.
- Obeso, J. A., M. C. Rodriguez-Oroz, B. Benitez-Temino, F. J. Blesa, J. Guridi, C. Marin and M. Rodriguez (2008). "Functional organization of the basal ganglia: therapeutic implications for Parkinson's disease." Mov Disord **23 Suppl 3**: S548-559.
- Ogawa, N., Y. Hirose, S. Ohara, T. Ono and Y. Watanabe (1985). "A simple quantitative bradykinesia test in MPTP-treated mice." Res Commun Chem Pathol Pharmacol **50**(3): 435-441.
- Parent, A. and L. N. Hazrati (1995). "Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop." Brain Res Brain Res Rev **20**(1): 91-127.
- Pellow, S., P. Chopin, S. E. File and M. Briley (1985). "Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat." J Neurosci Methods **14**(3): 149-167.
- Perry, C. J., F. Reed, I. C. Zbukvic, J. H. Kim and A. J. Lawrence (2016). "The metabotropic glutamate 5 receptor is necessary for extinction of cocaine-associated cues." Br J Pharmacol **173**(6): 1085-1094.

- Petersen, S., C. Bomme, C. Baastrup, A. Kemp and G. R. Christoffersen (2002). "Differential effects of mGluR1 and mGluR5 antagonism on spatial learning in rats." Pharmacol Biochem Behav **73**(2): 381-389.
- Pietraszek, M., A. Gravius, D. Schafer, T. Weil, D. Trifanova and W. Danysz (2005). "mGluR5, but not mGluR1, antagonist modifies MK-801-induced locomotor activity and deficit of prepulse inhibition." Neuropharmacology **49**(1): 73-85.
- Pietraszek, M., I. Sukhanov, P. Maciejak, J. Szyndler, A. Gravius, A. Wislowska, A. Plaznik, A. Y. Beshpalov and W. Danysz (2005). "Anxiolytic-like effects of mGluR1 and mGluR5 receptor antagonists in rats." Eur J Pharmacol **514**(1): 25-34.
- Pin, J. P. and R. Duvoisin (1995). "The metabotropic glutamate receptors: structure and functions." Neuropharmacology **34**(1): 1-26.
- Plath, N., O. Ohana, B. Dammermann, M. L. Errington, D. Schmitz, C. Gross, X. Mao, A. Engelsberg, C. Mahlke, H. Welzl, U. Kobalz, A. Stawrakakis, E. Fernandez, R. Waltereit, A. Bick-Sander, E. Therstappen, S. F. Cooke, V. Blanquet, W. Wurst, B. Salmen, M. R. Bosl, H. P. Lipp, S. G. Grant, T. V. Bliss, D. P. Wolfer and D. Kuhl (2006). "Arc/Arg3.1 is essential for the consolidation of synaptic plasticity and memories." Neuron **52**(3): 437-444.
- Redgrave, P., M. Rodriguez, Y. Smith, M. C. Rodriguez-Oroz, S. Lehericy, H. Bergman, Y. Agid, M. R. DeLong and J. A. Obeso (2010). "Goal-directed and habitual control in the basal ganglia: implications for Parkinson's disease." Nat Rev Neurosci **11**(11): 760-772.
- Riaza Bermudo-Soriano, C., M. M. Perez-Rodriguez, C. Vaquero-Lorenzo and E. Baca-Garcia (2012). "New perspectives in glutamate and anxiety." Pharmacol Biochem Behav **100**(4): 752-774.
- Ribeiro, F. M., A. Hamilton, J. G. Doria, I. M. Guimaraes, S. P. Cregan and S. S. Ferguson (2014). "Metabotropic glutamate receptor 5 as a potential therapeutic target in Huntington's disease." Expert Opin Ther Targets **18**(11): 1293-1304.
- Rodrigues, S. M., E. P. Bauer, C. R. Farb, G. E. Schafe and J. E. LeDoux (2002). "The group I metabotropic glutamate receptor mGluR5 is required for fear memory formation and long-term potentiation in the lateral amygdala." J Neurosci **22**(12): 5219-5229.
- Rondard, P. and J. P. Pin (2015). "Dynamics and modulation of metabotropic glutamate receptors." Curr Opin Pharmacol **20**: 95-101.
- Rowley, N. M., K. K. Madsen, A. Schousboe and H. Steve White (2012). "Glutamate and GABA synthesis, release, transport and metabolism as targets for seizure control." Neurochem Int **61**(4): 546-558.
- Schachtman, T. R., C. Bills, R. Ghinescu, K. Murch, P. Serfozo and A. Simonyi (2003). "MPEP, a selective metabotropic glutamate receptor 5 antagonist, attenuates conditioned taste aversion in rats." Behav Brain Res **141**(2): 177-182.
- Schiefer, J., A. Sprunken, C. Puls, H. G. Luesse, A. Milkereit, E. Milkereit, V. Johann and C. M. Kosinski (2004). "The metabotropic glutamate receptor 5 antagonist MPEP

and the mGluR2 agonist LY379268 modify disease progression in a transgenic mouse model of Huntington's disease." Brain Res **1019**(1-2): 246-254.

Sebastianutto, I. and M. A. Cenci (2018). "mGlu receptors in the treatment of Parkinson's disease and L-DOPA-induced dyskinesia." Curr Opin Pharmacol **38**: 81-89.

Sedelis, M., K. Hofele, G. W. Auburger, S. Morgan, J. P. Huston and R. K. Schwarting (2000). "MPTP susceptibility in the mouse: behavioral, neurochemical, and histological analysis of gender and strain differences." Behav Genet **30**(3): 171-182.

Semenova, S. and A. Markou (2007). "The effects of the mGluR5 antagonist MPEP and the mGluR2/3 antagonist LY341495 on rats' performance in the 5-choice serial reaction time task." Neuropharmacology **52**(3): 863-872.

Sethna, F. and H. Wang (2014). "Pharmacological enhancement of mGluR5 facilitates contextual fear memory extinction." Learn Mem **21**(12): 647-650.

Shiflett, M. W. and B. W. Balleine (2011). "Molecular substrates of action control in cortico-striatal circuits." Prog Neurobiol **95**(1): 1-13.

Shigemoto, R., S. Nomura, H. Ohishi, H. Sugihara, S. Nakanishi and N. Mizuno (1993). "Immunohistochemical localization of a metabotropic glutamate receptor, mGluR5, in the rat brain." Neurosci Lett **163**(1): 53-57.

Shimada, T., K. Matsumoto, M. Osanai, H. Matsuda, K. Terasawa and H. Watanabe (1995). "The modified light/dark transition test in mice: evaluation of classic and putative anxiolytic and anxiogenic drugs." Gen Pharmacol **26**(1): 205-210.

Simonyi, A., T. R. Schachtman and G. R. Christoffersen (2005). "The role of metabotropic glutamate receptor 5 in learning and memory processes." Drug News Perspect **18**(6): 353-361.

Simonyi, A., P. Serfozo, P. B. Shelat, M. M. Dopheide, A. P. Coulibaly and T. R. Schachtman (2007). "Differential roles of hippocampal metabotropic glutamate receptors 1 and 5 in inhibitory avoidance learning." Neurobiol Learn Mem **88**(3): 305-311.

Smolders, I., R. Clinckers, A. Meurs, D. De Bundel, J. Portelli, G. Ebinger and Y. Michotte (2008). "Direct enhancement of hippocampal dopamine or serotonin levels as a pharmacodynamic measure of combined antidepressant-anticonvulsant action." Neuropharmacology **54**(6): 1017-1028.

Spooren, W. P., F. Gasparini, R. Bergmann and R. Kuhn (2000). "Effects of the prototypical mGlu(5) receptor antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)-pyridine on rotarod, locomotor activity and rotational responses in unilateral 6-OHDA-lesioned rats." Eur J Pharmacol **406**(3): 403-410.

Stachowicz, K., K. Golembiowska, M. Sowa, G. Nowak, E. Chojnacka-Wojcik and A. Pilc (2007). "Anxiolytic-like action of MTEP expressed in the conflict drinking Vogel test in rats is serotonin dependent." Neuropharmacology **53**(6): 741-748.

Stauffer, S. R. (2011). "Progress toward positive allosteric modulators of the metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGluR5)." ACS Chem Neurosci **2**(8): 450-470.

Steckler, T., A. F. Oliveira, C. Van Dyck, H. Van Craenendonck, A. M. Mateus, X. Langlois, A. S. Lesage and J. Prickaerts (2005). "Metabotropic glutamate receptor 1 blockade impairs acquisition and retention in a spatial Water maze task." Behav Brain Res **164**(1): 52-60.

Stewart, A., J. Huang and R. A. Fisher (2012). "RGS Proteins in Heart: Brakes on the Vagus." Front Physiol **3**: 95.

Swanson, C. J., M. Bures, M. P. Johnson, A. M. Linden, J. A. Monn and D. D. Schoepp (2005). "Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders." Nat Rev Drug Discov **4**(2): 131-144.

Tataarczyńska, E., A. Klodzinska, E. Chojnacka-Wojcik, A. Palucha, F. Gasparini, R. Kuhn and A. Pilc (2001). "Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of MPEP, a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist." Br J Pharmacol **132**(7): 1423-1430.

Terbeck, S., F. Akkus, L. P. Chesterman and G. Hasler (2015). "The role of metabotropic glutamate receptor 5 in the pathogenesis of mood disorders and addiction: combining preclinical evidence with human Positron Emission Tomography (PET) studies." Front Neurosci **9**: 86.

Thanvi, B., N. Lo and T. Robinson (2007). "Levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: clinical features, pathogenesis, prevention and treatment." Postgrad Med J **83**(980): 384-388.

Thomas, A. M., N. Bui, J. R. Perkins, L. A. Yuva-Paylor and R. Paylor (2012). "Group I metabotropic glutamate receptor antagonists alter select behaviors in a mouse model for fragile X syndrome." Psychopharmacology (Berl) **219**(1): 47-58.

Thoreson, W. B. and P. Witkovsky (1999). "Glutamate receptors and circuits in the vertebrate retina." Prog Retin Eye Res **18**(6): 765-810.

Ticha, K., A. Mikulecka and P. Mares (2011). "Behavioral consequences of the mGlu5 receptor antagonist MTEP in immature rats." Pharmacol Biochem Behav **99**(4): 619-625.

Ungerleider, L. G., J. Doyon and A. Karni (2002). "Imaging brain plasticity during motor skill learning." Neurobiol Learn Mem **78**(3): 553-564.

Uslaner, J. M., S. Parmentier-Batteur, R. B. Flick, N. O. Surles, J. S. Lam, C. H. McNaughton, M. A. Jacobson and P. H. Hutson (2009). "Dose-dependent effect of CDPPB, the mGluR5 positive allosteric modulator, on recognition memory is associated with GluR1 and CREB phosphorylation in the prefrontal cortex and hippocampus." Neuropharmacology **57**(5-6): 531-538.

Uzun, S., O. Kozumplik, M. Jakovljevic and B. Sedick (2010). "Side effects of treatment with benzodiazepines." Psychiatr Danub **22**(1): 90-93.

Varty, G. B., M. Grilli, A. Forlani, S. Fredduzzi, M. E. Grzelak, D. H. Guthrie, R. A. Hodgson, S. X. Lu, E. Nicolussi, A. J. Pond, E. M. Parker, J. C. Hunter, G. A. Higgins, A. Reggiani and R. Bertorelli (2005). "The antinociceptive and anxiolytic-like effects of the metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) antagonists, MPEP and MTEP, and the

mGluR1 antagonist, LY456236, in rodents: a comparison of efficacy and side-effect profiles." Psychopharmacology (Berl) **179**(1): 207-217.

Wilkerson, J. R., J. P. Albanesi and K. M. Huber (2018). "Roles for Arc in metabotropic glutamate receptor-dependent LTD and synapse elimination: Implications in health and disease." Semin Cell Dev Biol **77**: 51-62.

Wilkerson, J. R., N. P. Tsai, M. A. Maksimova, H. Wu, N. P. Cabalo, K. W. Loerwald, J. B. Dichtenberg, J. R. Gibson and K. M. Huber (2014). "A role for dendritic mGluR5-mediated local translation of Arc/Arg3.1 in MEF2-dependent synapse elimination." Cell Rep **7**(5): 1589-1600.

Xu, J., Y. Zhu, A. Contractor and S. F. Heinemann (2009). "mGluR5 has a critical role in inhibitory learning." J Neurosci **29**(12): 3676-3684.

Zhu, C. Z., S. G. Wilson, J. P. Mikusa, C. T. Wismer, D. M. Gauvin, J. J. Lynch, 3rd, C. L. Wade, M. W. Decker and P. Honore (2004). "Assessing the role of metabotropic glutamate receptor 5 in multiple nociceptive modalities." Eur J Pharmacol **506**(2): 107-118.

Zundorf, G. and G. Reiser (2011). "Calcium dysregulation and homeostasis of neural calcium in the molecular mechanisms of neurodegenerative diseases provide multiple targets for neuroprotection." Antioxid Redox Signal **14**(7): 1275-1288.